



ACCREDITATION
n° 1-0144
PORTEE
COMMUNIQUEE
SUR DEMANDE

SOCIETE BIOMERIEUX
Chemin de l'Orme
69280 MARCY L'ETOILE

Validation AFNOR des méthodes alternatives d'analyse
Application à la microbiologie alimentaire

Rapport de synthèse

(Etudes préliminaire et collaborative conduites selon la norme EN ISO 16140)

Validation AFNOR, selon le référentiel EN ISO 16140, du test AccuProbe *Listeria monocytogenes* réf. 39500 pour la recherche de *Listeria monocytogenes* dans les aliments

Référence du protocole : BIO 12/4-02/95

Méthodes qualitatives

Ce rapport comprend 53 pages dont 3 annexes.

SYNTHESE AccuProbe *L. monocytogenes* - Version 1
27 février 2007

ADRIA DEVELOPPEMENT
Creac'h Gwen - F. 29196 QUIMPER Cedex - Tél. (33) 02.98.10.18.18 - Fax (33) 02.98.10.18.08
E-mail : adria.developpement@adria.tm.fr - Site web : http://www.adria.tm.fr - Site réservé adhérents : http://www.clubiaa.net
ASSOCIATION LOI DE 1901 - N° SIRET 306 964 271 00036 - N° EXISTENCE 532900006329 - N°TVA FR4530696427100036

Sommaire

Avant Propos

L'accréditation du COFRAC atteste de la compétence des laboratoires pour les seuls essais couverts par l'accréditation qui sont identifiés par le symbole◆.

L'ensemble des renseignements permettant de valider la garantie des analyses est tenu à la disposition de la Société BioMerieux.

Les résultats sont synthétisés au sein de tableaux et interprétés selon la norme EN ISO 16140.

- **Fabricant :** **Société BIOMERIEUX**
  Chemin de l'Orme
  69280 MARCY L'ETOILE

- **Laboratoire expert** : **ADRIA Développement**
  ZA Creac'h Gwen
  29196 QUIMPER Cedex

- **Méthode à valider** : **Test AccuProbe *Listeria monocytogenes***

- **Référentiel de validation** : Norme EN ISO 16140 (octobre 2003) : protocole pour la validation des méthodes alternatives

- **Méthode de référence**◆ : Norme EN ISO 11290-1/A1 (2004) :
  Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* -
  Partie 1 : méthode de recherche

- **Etendue de la validation** : Produits d'alimentation humaine
  Extension aux échantillons d'environnement

◆ EN ISO 11290-1/A1(2004) : essai effectué sous le couvert de l'accréditation par le laboratoire expert

1 INTRODUCTION

1.1 Référentiel de validation

Le référentiel de validation utilisé est la norme EN ISO 16140 (octobre 2003) : protocole pour la validation des méthodes alternatives.

1.2 Protocole et principe de la méthode alternative

Le protocole et la notice technique sont donnés en annexe 1.

1.2.1 Protocole d'utilisation

Le protocole validé est le suivant :

- enrichissement en Fraser 1/2 pendant 24 h et 48 h à 30°C,
- écouvillonnage sur Oxford ou Palcam pour les produits laitiers, et sur Palcam pour les autres catégories, avec une incubation de 18 à 24 h à 37°C,
- test AccuProbe *Listeria monocytogenes*,
- confirmation par isolement sur milieux chromogènes. Les milieux suivants ont été testés durant les validation de 2003 et de 2007 : OAA, RAPID'L. mono,.ALOA™, CHROMagar™ Listeria et Compass L mono agar.

1.2.2 Principe

Après une phase d'enrichissement en bouillon Fraser 1/2, suivie d'un isolement sur gélose Palcam ou Oxford, le test AccuProbe permet la détection de *Listeria monocytogenes* par un test d'hybridation moléculaire. La détection des complexes ARN-ADN formés et marqués se fait par émission de photons détectés à l'aide d'un luminomètre.

Les résultats sont exprimés comme suit :

	Leader
Valeur seuil	50 000 RLU
Zone d'incertitude	40 000 - 49 999 RLU
Contrôle -	< 20 000 RLU
Contrôle +	> 50 000 RLU

RLU : Relative Light Units

Dans le cadre de la validation AFNOR, tous les échantillons positifs à l'issue du test AccuProbe ont été confirmés, la confirmation étant réalisée à partir du milieu d'isolement (gélose Oxford ou Palcam) par isolement sur milieu chromogène. La présence de colonies caractéristiques isolées confirme le résultat positif du test AccuProbe.

1.3 Domaine d'application demandé

- Produits d'alimentation humaine
- Extension aux échantillons d'environnement

1.4 Méthode de référence

La méthode de référence est la norme EN ISO 11290-1/A1 (2004) : méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* - Partie 1 : méthode de recherche.

Le protocole est schématisé en annexe 2.

1.5 Historique de la validation

Le test AccuProbe *Listeria monocytogenes* a été validé le 7 février 1995 pour les produits laitiers (n° attestation EUR 15/1 - 02/95), avec une extension à tous les produits d'alimentation humaine le 13 novembre 1996 (n° attestation BIO 12/4 - 02/95). La première reconduction a eu lieu le 18 janvier 1999 et la seconde le 6 février 2003.

Méthodes de référence à laquelle la méthode alternative a été comparée :

- ✓ ***Etude de 1995*** : la validation a été obtenue par rapport à la méthode NF V08-055 « Microbiologie des aliments - Recherche de *Listeria monocytogenes* - Méthode de routine ».

- ✓ ***Etudes de 1998 et 2003*** : la validation a été obtenue par rapport à la méthode EN ISO 11290-1 (1997) « Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes*. Partie 1 : méthode de recherche ».

1.6 Principaux résultats obtenus lors de la validation initiale

✓ ***Praticabilité***

Les résultats négatifs sont obtenus en 3 jours avec le test AccuProbe, contre 5 à 7 jours avec la méthode de référence EN ISO 11290-1.

Les résultats positifs sont obtenus en 3 à 4 jours avec le test AccuProbe et confirmation sur gélose chromogène, contre 4 à 7 jours par la méthode de référence EN ISO 11290-1.

La méthode alternative est flexible : elle permet de réaliser des tests sur des petites séries aussi bien que sur des grandes séries, la phase solide du test étant constituée de tubes « sonde » individuels.

✓ ***Spécificité (étude de 1994)***

57 souches de *Listeria monocytogenes* ont été détectées sur 57 testées. L'étude de 37 souches n'appartenant pas à l'espèce *Listeria monocytogenes* (17 souches du genre *Listeria* et 20 souches de genres bactériens proches) n'a pas mis en évidence la présence de réactions croisées.

✓ ***Limite de détection intrinsèque (études de 1994 et 1996)***

Nombre de *Listeria monocytogenes* à introduire pour obtenir une réaction positive du test : 10^4 à 10^5 bactéries/ml (résultats obtenus sur des souches pures de *Listeria monocytogenes*).

✓ ***Limite de détection en matrice (études de 1994 et 1996)***

Des essais ont été effectués en 1994 et 1996, sur 4 aliments (lait, rillettes, filet de poisson, salade 4ème gamme) contaminés artificiellement chacun par 4 souches *Listeria monocytogenes*, à 5 niveaux de contamination: 0 ; 1 à 10 ; 2 à 20 ; 5 à 50 ; 10 à 100 bactéries par 25 g. Les résultats sont les suivants :

Niveau de contamination bactéries / 25 g	Méthode alternative	Méthode de référence NF V08-055
1 à 10	88 %	86 %
2 à 20	94 %	94 %
5 à 50	97 %	97 %
10 à 100	97 %	97 %

Les limites de détection des 2 méthodes sont équivalentes.

✓ ***Justesse***

- **Etude de 1994-1996 : comparaison des performances de la méthode alternative par rapport à la méthode NF V 08-055**

En 1994 et 1996, des essais ont été effectués sur 272 échantillons (produits divers), dont 92 naturellement contaminés. Tous les échantillons ont été analysés en double par la méthode alternative et en double par la méthode AFNOR V 08-055.

Les résultats sont les suivants:

- Concordants : 256
- Faux-négatifs ou déviations négatives de la méthode alternative = 4
- Positifs supplémentaires ou déviations positives de la méthode alternative = 12 (faux-négatifs de la méthode de référence).

Conclusion : La concordance entre les 2 méthodes est satisfaisante.

- **Etude de 2003 : extension de la méthode à la confirmation des résultats positifs par isolement sur une gélose chromogène. Les 4 milieux suivants ont été testés: ALOA, RAPID'L. Mono, Chromagar Listeria et Compass L. mono Agar.**

Des essais ont été effectués en 2003, sur 80 échantillons (produits carnés, produits laitiers, produits de la pêche, produits végétaux et divers) dont 40 échantillons naturellement contaminés et 40 échantillons artificiellement contaminés.

Les échantillons positifs du test AccuProbe ont été confirmés par isolement à partir de la gélose Palcam ou Oxford, sur 4 géloses chromogènes : ALOA, RAPID'L. mono, Chromagar Listeria et Compass L. mono Agar.

Les résultats sont les suivants:

- Concordants : 77
- Positifs supplémentaires ou déviations positives de la méthode alternative : 3

Conclusion : l'isolement sur une gélose chromogène, réalisé à partir de la gélose Palcam ou Oxford permet de confirmer les tests AccuProbe positifs.

✓ ***Fidélité (étude de 2003)***

Les données de fidélité ont été vérifiées au cours d'un essai effectué en 2003, comprenant 12 laboratoires. Les analyses ont été effectuées sur des échantillons de lait pasteurisé demi-écrémé, contaminés artificiellement avec une souche de *Listeria monocytogenes* isolée de lait cru, aux 4 niveaux suivants: 0 UFC/25ml, 1-10 UFC/25ml, 5-50 UFC/25ml et 10-100 UFC/25ml.

Les laboratoires ont testé 2 échantillons pour chaque niveau de contamination, soit 8 analyses par laboratoire. Les résultats par niveau de contamination sont les suivants :

Niveaux	Nombre d'échantillons total	Nombre d'échantillons analysés	Nombre de résultats négatifs	Nombre de résultats positifs	Nombre d'échantillons inexploités
0 UFC/25 g	24	24	24	0	0
1-10 UFC/25 g	24	24	1*	23*	0
5-50 UFC/25 g	24	24	0	24	0
10-100 UFC/25	24	24	0	24	0

* Le sac contenant le milieu d'enrichissement a été percé au cours de l'incubation et a perdu la moitié de son contenu.

2 ETUDE PRELIMINAIRE

2.1 Exactitude relative, spécificité relative et sensibilité relative

2.1.1 Nombre et nature des échantillons

346 échantillons ont été analysés au total. La répartition par catégorie est donnée dans le tableau ci-après :

Catégories	Types	Positifs (nombre)	Négatifs (nombre)	Total (nombre)
Produits carnés	Viandes crues, charcuteries, plats traiteurs	34	39	73
Produits laitiers	Laits crus, fromages, poudres de lait	34*	34*	68
Produits de la mer	Poissons et coquillages crus, poissons fumés, plats traiteurs	38	38	76
Végétaux et divers	Surgelés, 4e gamme, salades, produits traiteurs	31	34	65
Echantillons de l'environnement	Environnement salaison, pâtisserie et transformation du poisson	32	32	64
TOTAL		169	177	346

* Tous résultats confondus méthode de référence, méthode AccuProbe avec Palcam pour toutes catégories et méthode AccuProbe avec Oxford pour la catégorie Produits laitiers

2.1.2 Contamination artificielle des échantillons

Des contaminations artificielles ont été réalisées par des inoculations ou des contaminations croisées.

74 échantillons ont été contaminés artificiellement dont 56 ont donné un résultat positif par l'une ou l'autre des méthodes. Les échantillons naturellement contaminés représentent donc 66,9 % des échantillons positifs.

2.1.3 Protocoles de confirmation

Lorsqu'un test AccuProbe positif est obtenu, des colonies issues de gélose Oxford ou Palcam sont isolées sur deux géloses chromogènes : OAA et RAPID'L. mono.

2.1.4 Résultats des essais

Les résultats bruts sont donnés en annexe 3.

A+ = positifs confirmés
A- = négatifs immédiats **et** négatifs après confirmation quand présomptifs positifs

Tableau 1 - Couples de résultats des méthodes de référence et alternative

✓ *Résultats obtenus à partir de la gélose Palcam*

Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 157	Déviation positive (R-/A+) PD = 8
Méthode alternative négative (A-)	Déviation négative (A-/R+) ND = 3	Accord négatif (A-/R-) NA = 178*

* : dont 3 Positifs AccuProbe non confirmés ; un second test AccuProbe réalisé sur les colonies a donné un résultat négatif. Echantillons 570, 661, 663.

✓ *Résultats obtenus avec la gélose Oxford pour les produits laitiers et avec la gélose Palcam pour les autres produits*

Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 156	Déviation positive (R-/A+) PD = 8
Méthode alternative négative (A-)	Déviation négative (A-/R+) ND = 4*	Accord négatif (A-/R-) NA = 178

* : dont 3 Positifs AccuProbe non confirmés ; un second test AccuProbe réalisé sur les colonies a donné un résultat négatif. Echantillons 570, 661, 663.

Tableau 2 - Produits carnés

Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 33	Déviation positive (R-/A+) PD = 1
Méthode alternative négative (A-)	Déviation négative (A-/R+) ND = 0	Accord négatif (A-/R-) NA = 39

PD = échantillon 668

Tableau 3 - Produits laitiers

✓ *Résultats obtenus à partir de la gélose Palcam*

Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 28	Déviation positive (R-/A+) PD = 3
Méthode alternative négative (A-)	Déviation négative (A-/R+) ND = 2	Accord négatif (A-/R-) NA = 35

PD : échantillons 421, 969, 1373 ND : échantillons 1369, 1374

✓ *Résultats obtenus avec la gélose Oxford*

Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 27	Déviation positive (R-/A+) PD = 3
Méthode alternative négative (A-)	Déviation négative (A-/R+) ND = 3	Accord négatif (A-/R-) NA = 35

PD : échantillons 421, 968, 969 ND : échantillons 571, 1369, 1374

Tableau 4 - Produits de la mer

Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 36	Déviation positive (R-/A+) PD = 2
Méthode alternative négative (A-)	Déviation négative (A-/R+) ND = 0	Accord négatif (A-/R-) NA = 38

PD : échantillons 932, 1359

Tableau 5 - Végétaux et divers

Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 30	Déviation positive (R-/A+) PD = 0
Méthode alternative négative (A-)	Déviation négative (A-/R+) ND = 1	Accord négatif (A-/R-) NA = 34

ND : échantillons 1377

Tableau 6 - Echantillons de l'environnement

Réponses	**Méthode de référence positive (R+)**	**Méthode de référence négative (R-)**
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) **PA = 30**	Déviation positive (R-/A+) **PD = 2**
Méthode alternative négative (A-)	Déviation négative (A-/R+) **ND = 0**	Accord négatif (A-/R-) **NA = 32**

PD : échantillons 533, 648

Tableau 7 - Calcul de l'exactitude relative (AC), de la sensibilité relative (SE) et de la spécificité relative (SP)

PA = Accord positif (R+/A+)   NA = Accord négatif (R-/A-)   PD = déviation positive (R-/A+)   ND = déviation négative (A-/R+)

✓ *Résultats obtenus avec la gélose Palcam*

Matrices	PA	NA	ND	PD	N	Exactitude relative AC (%) [100x(PA+NA])/N]	N+ PA + ND	Sensibilité relative SE (%) [100xPA]/N+]	N- NA + PD	Spécificité relative SP (%) [100xNA]/N-]
Produits carnés	33	39	0	1	73	98,6	33	100,0	40	97,5
Produits laitiers	28	35	2	3	68	92,6	30	93,3	38	92,1
Produits de la mer	36	38	0	2	76	97,4	36	100,0	36	95,0
Végétaux et divers	30	34	1	0	65	98,5	31	96,8	34	100,0
Environnement	30	32	0	2	64	96,9	30	100,0	34	94,1
TOTAL	157	178	3	8	346	96,8	160	98,1	186	95,7

✓ *Résultats obtenus avec la gélose Oxford pour les produits laitiers et avec la gélose Palcam pour les autres produits*

Matrices	PA	NA	ND	PD	N	Exactitude relative AC (%) [100x(PA+NA])/N]	N+ PA + ND	Sensibilité relative SE (%) [100xPA]/N+]	N- NA + PD	Spécificité relative SP (%) [100xNA]/N-]
Produits carnés	33	39	0	1	73	98,6	33	100,0	40	97,5
Produits laitiers	27	35	3	3	68	91,2	30	90,0	38	92,1
Produits de la mer	36	38	0	2	66	97,4	36	100,0	36	95,0
Végétaux et divers	30	34	1	0	65	98,5	31	96,8	34	100,0
Environnement	30	32	0	2	64	96,9	30	100,0	34	94,1
TOTAL	156	178	4	8	346	96,5	160	97,5	186	95,7

2.1.5 Calcul de l'exactitude relative (AC), de la sensibilité relative (SE) et de la spécificité relative (SP)

Les valeurs en pourcentage calculées pour la méthode alternative sont les suivantes :

	Utilisation du milieu Palcam pour toutes les matrices	Utilisation du milieu Oxford pour les produits laitiers et du milieu Palcam pour les autres matrices
Exactitude relative	AC = 96,8	AC = 96,5
Spécificité relative	SP = 95,7	SP = 95,7
Sensibilité relative	SE = 98,1	SE = 97,5

	Utilisation du milieu Palcam pour toutes les matrices	Utilisation du milieu Oxford pour les produits laitiers et du milieu Palcam pour les autres matrices
Méthode alternative : (PA + PD) / (PA + PD + ND)	98,2	97,6
Méthode de référence : (PA + ND) / (PA + PD + ND)	95,2	95,2

2.1.6 Analyse des discordants

Les 12 échantillons discordants sont répartis comme suit :

4 DEVIATIONS NEGATIVES	
Produits laitiers (3)	
Echantillon n° 571 (Fromage non affiné) *Déviation négative pour le milieu Oxford uniquement dans la méthode Accuprobe*	Des colonies suspectes ont été observées à la fois sur géloses Oxford et Palcam pour la méthode AccuProbe, mais seul le test AccuProbe réalisé sur gélose Palcam s'est révélé positif. Une forte contamination en *Listeria* autre que *Listeria monocytogenes* pourrait expliquer ce résultat. Par la méthode de référence, des colonies de *L. monocytogenes* sont obtenues sur gélose OAA à partir du Fraser 1/2.
Echantillon n° 1369 (Lait cru) *Quel que soit le milieu d'écouvillonnage de la méthode AccuProbe, Oxford ou Palcam*	Des colonies suspectes ont été observées sur géloses Oxford et Palcam, mais le test AccuProbe s'est révélé négatif. Pour la méthode de référence, des colonies de *Listeria monocytogenes* ont été observées sur gélose OAA et Palcam, après Fraser 1 uniquement. Il est probable que l'échantillon était faiblement contaminé en *L. monocytogenes*.
Echantillon n° 1374 (Mille-feuilles) *Quel que soit le milieu d'écouvillonnage de la méthode AccuProbe, Oxford ou Palcam*	Il s'agit d'un échantillon positif obtenu par contamination croisée avec du lait cru. Des colonies suspectes sont observées sur géloses Oxford et Palcam à partir du Fraser 1/2 incubé 48 h mais les tests AccuProbe se sont révélés négatifs. Pour la méthode de référence, des colonies suspectes ont été obtenues sur gélose Palcam à partir du Fraser 1/2, mais il s'agit de *Listeria* autre que *Listeria monocytogenes* qui n'a été retrouvée qu'à partir du Fraser 1, avec une colonie sur gélose OAA uniquement. Il s'agit donc d'un échantillon très faiblement contaminé.
Végétaux et divers (1)	
Echantillon n° 1377 (Courgettes en rondelle)	Il s'agit d'un échantillon naturellement contaminé. Pour la méthode AccuProbe, des colonies suspectes ont été obtenues sur géloses Oxford et Palcam dès 24 h d'incubation du Fraser 1/2 mais un test AccuProbe apparaît négatif. Pour la méthode de référence, des colonies de *Listeria monocytogenes* ont été obtenues sur gélose Palcam à partir du Fraser 1/2.

8 DEVIATIONS POSITIVES	
Produits carnés (1)	
Echantillon n° 668 (Chipolatas)	Cet échantillon a été détecté par la méthode AccuProbe uniquement à partir de gélose Palcam issue d'un Fraser 1/2 incubé 48 h. Il s'agit probablement d'un échantillon très faiblement contaminé. Aucune colonie suspecte n'a été observée par la méthode de référence.
Produits laitiers (4)	
Echantillon n° 421 (Fromage à pâte cuite) *Quel que soit le milieu d'écouvillonnage de la méthode AccuProbe, Oxford ou Palcam*	La méthode AccuProbe a donné un résultat positif à partir des géloses Oxford et Palcam issues du Fraser 1/2 incubé 48 h. Aucune colonie suspecte n'a été observée par la méthode de référence. Echantillon faiblement contaminé.
Echantillon n° 968 (Poudre de lait) *Déviation positive pour le milieu Oxford, uniquement dans la méthode AccuProbe*	Cet échantillon a été détecté par la méthode AccuProbe uniquement à partir de gélose Oxford issue d'un Fraser 1/2 incubé 48 h. Il s'agit probablement d'un échantillon très faiblement contaminé. Aucune colonie suspecte n'a été observée par la méthode de référence.
Echantillon n° 969 (Poudre de lait) *Quel que soit le milieu d'écouvillonnage de la méthode AccuProbe, Oxford ou Palcam*	Echantillon détecté par la méthode AccuProbe sur géloses Oxford et Palcam à partir du Fraser 1/2 incubé 48 h. Il s'agit également d'un échantillon faiblement contaminé. Aucune colonie suspecte n'a été observée par la méthode de référence.
Echantillon n° 1373 (Lait fermenté) *Déviation positive pour le milieu Palcam uniquement dans la méthode AccuProbe*	La méthode AccuProbe a donné un résultat positif uniquement à partir de la gélose Palcam, ceci dès 24 h d'incubation du Fraser 1/2. Aucune colonie suspecte n'a été observée par la méthode de référence. Echantillon faiblement contaminé.
Produits de la mer (1)	
Echantillon n° 932 (Hoki pané)	La méthode AccuProbe a donné un résultat positif à partir des géloses Oxford et Palcam issues du Fraser 1/2 incubé 48 h. Aucune colonie suspecte n'a été observée par la méthode de référence. Echantillon faiblement contaminé.
Echantillon N° 1359 (Moule)	La méthode AccuProbe a donné un résultat positif à partir de la gélose Palcam issue du Fraser 1/2 incubé 48 h. Aucune colonie suspecte n'a été observée par la méthode de référence. Echantillon faiblement contaminé.

Echantillons de l'environnement (2)	
Echantillon n° 533 (Tapis environnement pâtisseries)	La méthode AccuProbe a donné un résultat positif uniquement à partir du Fraser 1/2 incubé 48 h. Aucune colonie suspecte n'a été observée par la méthode de référence. Echantillon faiblement contaminé.
Echantillon n° 648 (Montants de portes Environnement salaison)	La méthode AccuProbe a donné un résultat positif uniquement à partir du Fraser 1/2 incubé 48 h. Aucune colonie suspecte n'a été observée par la méthode de référence. Echantillon faiblement contaminé.

Le nombre de discordants entre la méthode de référence et la méthode alternative est de :

- ✓ **Utilisation du milieu Palcam pour toutes les catégories**

  Y = ND + PD = 8 + 3 = 11

  y < 22,   m = 3

  M = 1

  m > M : les deux méthodes ne sont pas différentes.

- ✓ **Utilisation du milieu Oxford pour la catégorie Produits laitiers et du milieu Palcam pour les autres catégories**

  Y = ND + PD = 8 + 4 = 12

  y < 22,   m= 4

  M = 2

  m > M : les deux méthodes ne sont pas différentes.

L'exactitude de la méthode alternative est satisfaisante.

2.1.7 Confirmations

Les tests AccuProbe positifs ont tous été confirmés à la fois, sur géloses OAA et RAPID'L. mono, excepté pour l'échantillon 932 (hoki pané) pour lequel des colonies suspectes ont été observées uniquement sur gélose OAA. L'identification des colonies a bien donné *Listeria monocytogenes* ; par contre, il s'agit d'une souche non hémolytique, non détectable sur RAPID'L. mono.

Trois échantillons ont donné des tests AccuProbe positifs sans qu'il soit possible de les confirmer sur gélose chromogène. Un second test appliqué sur les géloses a donné un résultat négatif. Il s'agit des échantillons 570 (tome au lait cru), 661 (poivrons rouges) et 663 (fromage au lait cru).

2.2 Niveau de détection relatif

2.2.1 Matrices utilisées

Cette étude a pour objectif de déterminer les quantités minimales de *Listeria monocytogenes* détectables dans la matrice alimentaire et de les comparer à celles obtenues par la méthode de référence.

Les limites de détection ont été définies par l'analyse du couple (matrice / souche) à quatre niveaux. Six réplicats de chaque condition ont été réalisés.

Les couples matrices, souches testés sont les suivantes :

- rillettes, inoculées par *Listeria monocytogenes 1*/2 V2/124
- saumon fumé, inoculé par *Listeria monocytogenes* 1/2a BR32,
- végétaux crus, inoculés par *Listeria monocytogenes* 1/2 10 11/1410,
- lait cru, inoculé par *Listeria monocytogenes* 4b 153,
- eau de process, inoculée par *Listeria monocytogenes* 877/113 isolée d'environnement.

2.2.2 Protocole de contamination

Six sachets de 25 g ont été préparés par matrice et par taux. Les sachets ont été inoculés individuellement par une suspension bactérienne.

Les analyses ont été effectuées à la fois par la méthode de référence et la méthode alternative.

Les matrices utilisées ont été analysées avant inoculation par la méthode EN ISO 11290-1/A1 (2004), afin de s'assurer de l'absence d'une contamination par *Listeria monocytogenes* des échantillons. Un dénombrement de la flore totale a également été réalisé sur chaque matrice.

2.2.3 Résultats

Tableau 8 - Résultats des niveaux de détection relatifs

	Niveau de détection relatif (UFC / 25 g ou 25 ml) selon le test de Spearman-Kärber[1]	
Couples (souche, matrice)	Méthode de référence	Méthode alternative
Rillettes / *Listeria monocytogenes 1*/2 V2/124	0,487 [0,334 ; 0,709]	0,487 [0,334 ; 0,709]
Saumon fumé / *Listeria monocytogenes* 1/2a BR32	0,235 [0,106 ; 0,522]	0,235 [0,106 ; 0,522]
Jardinière de légumes / *Listeria monocytogenes* 1/2 10 11/1410	0,262 [0,112 ; 0,611]	0,262 [0,112 ; 0,611]
Lait cru / *Listeria monocytogenes* 4b 153	1,201 [0,280 ; 5,162]	1,201 [0,280 ; 5,162]
Eau de process / *Listeria monocytogenes* 877/113	0,457 [0,178 ; 1,169]	0,457 [0,178 ; 1,169]

Tableau 9 - Valeurs des niveaux de détection relatifs

	Niveau de détection relatif (UFC / 25 g ou 25 ml) selon le test de Spearman-Kärber[1]	
Couples (souche, matrice)	Méthode de référence	Méthode alternative
Rillettes / *Listeria monocytogenes 1*/2 V2/124	0,5 [0,3 ; 0,7]	0,5 [0,3 ; 0,7]
Saumon fumé / *Listeria monocytogenes* 1/2a BR32	0,2 [0,1 ; 0,5]	0,2 [0,1 ; 0,5]
Jardinière de légumes / *Listeria monocytogenes* 1/2 10 11/1410	0,3 [0,1 ; 0,6]	0,3 [0,1 ; 0,6]
Lait cru / *Listeria monocytogenes* 4b 153	1,2 [0,3 ; 5,2]	1,2 [0,3 ; 5,2]
Eau de process / *Listeria monocytogenes* 877/113	0,5 [0,2 ; 1,2]	0,5 [0,2 ; 1,2]

Le niveau de détection relatif est compris entre 0,3 et 5,2 pour la méthode de référence et la méthode alternative.

Le niveau de détection de la méthode alternative est identique à celui de la méthode de référence.

2.3 Inclusivité / exclusivité

L'objectif de l'étude d'inclusivité/exclusivité est de vérifier que toutes les souches *Listeria monocytogenes* sont détectées par la méthode AccuProbe *Listeria monocytogenes* et qu'il n'y a pas de réaction croisée avec des souches autres que *Listeria monocytogenes*.

[1] *"Hitchins A. Proposed Use of a 50 % Limit of Detection Value in Defining Uncertainty Limits in the Validation of Presence-Absence Microbial Detection Methods, Draft 10th December, 2003".*

2.3.1 Protocoles d’essai

- ✓ **Protocole pour l’inclusivité**

Cinquante souches de *Listeria monocytogenes* ont été décongelées et mises en culture en bouillon BHI à 37°C. Les souches ont été inoculées à un taux compris entre 10 et 100 cellules pour 225 ml en bouillon Fraser 1/2. Le protocole complet de la méthode AccuProbe a ensuite été appliqué.

- ✓ **Protocole pour l’exclusivité**

Trente souches négatives ont été décongelées et mises en culture en bouillon BHI à 37°C. Les souches ont ensuite été inoculées à un taux de 10^5/225 ml en bouillon nutritif. Le protocole complet de la méthode alternative a ensuite été appliqué.

2.3.2 Résultats

- ✓ **Inclusivité**

Toutes les souches de *Listeria monocytogenes* testées ont donné un Test AccuProbe positif et des colonies caractéristiques en protocole de confirmation (géloses OAA et RAPID’L. mono).

- ✓ **Exclusivité**

Sur les trente souches négatives testées, aucune souche n’a donné un test AccuProbe positif.

2.4 Praticabilité

✓ Temps réel de manipulation

Etapes	Méthode ISO 112901/A1		Méthode AccuProbe	
	6 échantillons	12 échantillons	6 échantillons	12 échantillons
Ajout du diluant, broyage	35	60	35	60
Repiquage en Fraser 1	5	10		
Isolement sur OAA et Palcam (O1/P1)	11	19		
Ecouvillonnage sur Palcam ou Oxford (F1/2 24 h)			6	10
Lecture des géloses OAA et Palcam	5	12		
Lectures des géloses Oxford ou Palcam			3	5
Ecouvillonnage F 1/2 48 h sur Oxford ou Palcam			6	10
Isolement du Fraser 1 sur OAA et Palcam (O2/P2)	5	12		
Lecture de gélose Oxford ou Palcam			3	5
Total échantillons négatifs	72	132	52	90
Total / échantillon négatif	12	11	8,8	7,5

Etapes	Méthode ISO 112901/A1		Méthode AccuProbe	
	6 échantillons	12 échantillons	6 échantillons	12 échantillons
Isolement sur TSAYE	20	26		
Test AccuProbe			15	20
Isolement sur gélose Chromagar			6	12
Lecture des géloses chromogènes			3	5
Tests de confirmation	38	86		
Total pour des échantillons positifs ou présentant des colonies suspectes	130	244	77	127
Total / échantillon positif ou présentant des colonies suspectes	21,7	20,3	12,8	10,6

✓ **Délais d'obtention des résultats**

Pour des échantillons négatifs, les délais d'obtention des résultats sont les suivants :

Etape	Méthode ISO 11290-1/A1	Méthode AccuProbe
Début de l'analyse	J0	J0
Isolements	J1 0 J3	J1 0 J2
Lectures OAA et Palcam	J2 à J5	
Lectures Oxford ou Palcam		J2 à J4

Pour des échantillons positifs ou présentant des colonies suspectes, les délais d'obtention des résultats sont les suivants :

Etape	Méthode ISO 11290-1/A1	Méthode AccuProbe
Début de l'analyse	J0	J0
Isolements	J1 à J3	J1 à J2
Lectures OAA et Palcam	J2 à J5	
Lectures Oxford ou Palcam		J2 à J4
Test AccuProbe		J2 à J4
Confirmation du test AccuProbe		J3 à J6
Confirmation du genre	J6 à J7	
Confirmation de l'espèce	J11 à J12	

Lors de l'analyse d'échantillons positifs, la méthode AccuProbe :

- **offre un gain de temps de manipulation (temps divisé par 2)**
- **diminue le délai de réponse.**

3 ETUDE INTERLABORATOIRES

3.1 Organisation de l'étude

3.1.1 Mise en oeuvre

✓ ***Nombre de laboratoires collaborateurs***

13 laboratoires collaborateurs ont participé à l'étude interlaboratoires.

✓ ***Matrice et souche utilisées***

Du lait pasteurisé demi-écrémé, inoculé par *Listeria monocytogenes* 4b 153.

✓ ***Nombre d'échantillons par laboratoire***

Les flacons de lait ont été inoculés individuellement à raison de 8 flacons par taux et par laboratoire, soit 24 flacons à analyser par laboratoire

3.1.2 Modalités de préparation et de contamination des échantillons (y compris le niveau de contamination)

Tous les échantillons ont été répartis par le laboratoire expert en flacons stériles, à raison de 25 ml par flacon, avant d'être contaminés.

✓ ***Préparation des suspensions contaminantes***

Deux suspensions (125 cellules/ml et 25 cellules/ml) ont été préparées à partir d'une culture d'une nuit en bouillon BHI à 37°C selon le protocole décrit dans les exigences relatives aux études préliminaires et collaboratives des règles techniques de l'AFNOR.

✓ ***Protocole de contamination des échantillons***

L'inoculation au taux faible a été réalisée à l'aide de 200 µl de la suspension à 25 cellules/ml et l'inoculation à taux fort a été effectuée par 200 µl de la suspension à 125 cellules/ml.

Après inoculation, les échantillons ont été homogénéisés et fermés hermétiquement par un parafilm, puis stockés au froid avant expédition.

Les taux d'inoculation visés étaient les suivants :

- 0 UFC/25 ml,
- 1 – 10 UFC/25 ml,
- 5 – 50 UFC/25 ml

3.1.3 Modalités d'expédition : date, moyens mis en œuvre pour le contrôle des températures (pendant le transport et à réception)

Les échantillons ont été traités semaine 46. Ils ont été expédiés le lundi 13 novembre 2006, la réception et la réalisation des analyses étant prévues dans les laboratoires le mardi 14 novembre 2006.

Les échantillons codés (code connu uniquement du laboratoire expert) ont été placés dans des caisses isothermes contenant des blocs réfrigérants et expédiés aux différents laboratoires à l'aide d'un transport express.

Un flacon témoin température contenant un enregistreur de température a été joint au colis, afin de suivre la température au cours du transport et de la mesurer à réception.

Chaque laboratoire, identifié par une lettre, a reçu :

- 24 échantillons contaminés, numérotés de 1 à 24,
- 1 échantillon non codé pour le dénombrement de la flore aérobie mésophile du lait par la méthode ISO 4833,
- 1 flacon d'eau contenant un thermobouton destiné à enregistrer la température au cours de l'acheminement du colis vers le laboratoire et permettant de contrôler la température à réception,
- un accusé de réception,
- un tableau de résultats à compléter et renvoyer au laboratoire expert.

3.1.4 Eléments nécessaires à la réalisation des essais par les laboratoires collaborateurs

✓ ***Réactifs utilisés***

L'ensemble des réactifs nécessaires à la mise en œuvre de la méthode alternative et de la méthode de référence a été fourni par la Société BioMerieux.

✓ ***Instructions***

Les instructions détaillées ont été transmises aux laboratoires par le laboratoire expert.

3.2 Contrôle des paramètres expérimentaux

3.2.1 Taux de contamination avant ensemencement, taux obtenus après contamination artificielle et stabilité des échantillons

3.1.2.1 Avant ensemencement

La recherche de *Listeria monocytogenes* a été effectuée sur six prélèvements de 25 ml de lait par la méthode ISO 11290-1/A1 (2004) avant ensemencement. Toutes les analyses se sont révélées négatives.

3.1.2.2 Taux de contamination obtenus

Les taux de contamination obtenus dans la matrice et les estimations de précision sont donnés dans le tableau suivant :

Niveau	Echantillons	Taux théorique ciblé (b/25 ml)	Taux réel (b/25 ml d'échantillon)	Estimation de la limite inférieure de la contamination par 25 ml d'échantillon	Estimation de la limite supérieure de la contamination par 25 ml d'échantillon
Niveau 0	2, 3, 5, 7, 9, 15, 18, 23	0	0	/	/
Niveau bas	4, 8, 11, 13, 17, 20, 21, 24	5	7	6	8
Niveau haut	1, 6, 12, 14, 16, 19, 22	25	28	25	33

3.1.2.3 Stabilité des échantillons

Le dénombrement a été réalisé sur 5 ml de lait. Les résultats sont reportés dans le tableau suivant :

Jour	Méthode de référence	Méthode alternative	UFC/25 ml (XLD)
J0	Présence	Présence	35 - 35
J1	Présence	Présence	25 - 30

Aucune évolution n'est à noter.

3.2.2 Température relevée au cours du transport, température à réception et délais de réception

Les températures au cours du transport et mesurées à réception, ainsi que le délai de réception des échantillons sont données ci-après :

Température des échantillons à réception

Laboratoires	Température relevée par le thermobouton (°C)	Température mesurée à réception (°C)	Délai de réception des échantillons
A	0,00	4,7	J1
B	0,50	2,7	
C	0,00	1,0	
D	0,0	3,5	
E	0,50	2,6	
F	0,00	2,1	
G	0,00	5,5	
H	0,00	3,1	
I	0,50	2,5	
J	- 0,50	4,3	
K	0,00	10,8	
L	0,00	2,5	
M	0,50	5,6	

Aucune anomalie n'a été observée pendant le transport ; la température mesurée pendant le transport était comprise entre 0 et 1°C.

Le laboratoire K a noté une température à réception de 10,8°C ; la température enregistrée par le thermobouton était de 0°C. Les résultats de ce laboratoire ont été conservés dans les interprétations.

3.2.3 Conclusion

Aucun problème n'a été rencontré au cours du transport, ni à la réception des échantillons.

3.3 Résultats des analyses

3.3.1 *Dénombrement de la flore aérobie mésophile*

Un échantillon non codé a été fourni aux laboratoires collaborateurs afin qu'ils réalisent le dénombrement de la flore aérobie mésophile du lait par la méthode ISO 4833. Les dénombrements obtenus varient entre 39 000 et 560 000 UFC/ml.

3.3.2 *Résultats obtenus par le laboratoire expert*

Tous les échantillons inoculés ont été trouvés positifs par les deux méthodes. La concordance entre les deux méthodes est de 100 %.

3.3.3 *Résultats obtenus par les laboratoires collaborateurs*

Sur les 13 laboratoires ayant participé à l'étude :

- un laboratoire n'a pas respecté le protocole, il s'agit du laboratoire E qui n'a pas réalisé les analyses par la méthode alternative après 48 h d'incubation du Fraser 1/2. Les résultats de ce laboratoire n'ont donc pas été pris en compte.

- deux laboratoires ont obtenu des résultats positifs par la méthode alternative après 48 h d'enrichissement du Fraser 1/2 pour des échantillons non inoculés :

  * le laboratoire A : 5 échantillons non inoculés ont été trouvés positifs par la méthode alternative. Il a été demandé à ce laboratoire, le lundi 27 novembre 2006, d'expédier au laboratoire expert les souches isolées afin de vérifier qu'il s'agissait bien de la souche inoculée. Les boîtes ont été jetées le 29 novembre 2006 sans avoir été expédiées, le laboratoire expert n'a donc pas pu procéder à la vérification. Il a alors été demandé à ce laboratoire de donner des précisions sur son protocole pour expliquer les intercontaminations ; la réponse du laboratoire est la suivante : « Les préparations sont réalisées sous hotte. Un transfert sac-pot est réalisé par la technicienne du poste « Pesée » qui, une fois l'échantillon « stomaché », sans l'intervention d'un autre matériel et près du bec Bunsen, fait « glisser » la solution-mère vers le pot stérile en inclinant le sac au-dessus de l'ouverture du pot. Le couvercle est ensuite revissé sur le pot qui est incubé ».

Compte-tenu des risques de contamination engendrés par cette technique, le laboratoire A n'a pas été retenu.

* le laboratoire H a obtenu deux résultats positifs sur des témoins par la méthode alternative à 48 h. Ce laboratoire a signalé qu'il avait coupé les sacs au scalpel après la première incubation, ce qui aurait pu entraîner des intercontaminations. Les souches isolées pour ces deux échantillons ont été transmises au laboratoire expert et ont été caractérisées par PFGE comme étant la souche inoculée. Le laboratoire H n'a pas été retenu.

- un laboratoire a eu un sac percé au cours de l'incubation (échantillon témoin). Ce laboratoire a été maintenu.

L'interprétation a donc été réalisée avec les laboratoires B, C, D, F, G, I, J, K, L et M.

3.4 Calculs

3.4.1 Calcul des pourcentages de spécificité (%SP) et de sensibilité (% SE) pour les deux méthodes

Le pourcentage de spécificité, pour le niveau L0 et pour chaque méthode, est calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$SP = \left[1 - \left(\frac{FP}{N-}\right) x\ 100\%\right]$$

avec : N- = nombre total de tous les essais L0
FP = nombre de faux positifs

Le pourcentage de sensibilité, pour chaque niveau de contamination positif et pour chaque méthode, est calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$SE = \frac{TP}{N+} x\ 100\%$$

avec : N+ = nombre total de tous les essais L1 ou L2
FP = nombre de vrais positifs

Les résultats sont reportés dans le tableau suivant :

Niveau	Méthode de référence		Méthode alternative	
	SP/SE	LCL %	SP/SE	LCL %
L0	SP% = 100	98	SP% = 100	98
L1	SE% = 100	98	SE% = 10	98
L2	SE% = 100	98	SE% = 100	98
L1+L2	SE% = 100	98	SE% = 100	98

3.4.2 *Calcul de l'exactitude relative (AC)*

Les résultats pour tous niveaux confondus sont donnés ci-après :

Tableau 10 - Couples de résultats de la méthode alternative et de la méthode de référence

Méthode alternative	Méthode de référence		Total
	+	-	
+	PA = 160	PD = 0	160
-	ND = 0	NA = 79 *	79
Total	N+ = 160	N- = 79	N = 39

* Un échantillon témoin n'a pas pu être analysé par le laboratoire D.

L'exactitude relative (AC), exprimée en pourcentage, est calculée à l'aide de l'équation suivante : $AC = \frac{(PA + NA)}{N} x\ 100\%$

avec : N = nombre d'échantillons soumis à essai
PA = nombre d'accords positifs
NA = nombre d'accords négatifs

Les valeurs d'exactitude de la méthode alternative par rapport à la méthode de référence ont été calculées pour chacun des niveaux et figurent dans les tableaux ci-après :

Tableau 11

Niveau	AC %	LCL %
L0	100	98
L1	100	98
L2	100	98
L1 + L2	100	98
Total	100	98

3.4.3 *Etude des résultats discordants*

Aucune discordance n'ayant été observée, le test statistique n'a pas été mis en œuvre.

3.5 Interprétation

3.5.1 Comparaison des valeurs d'exactitude relative, de spécificité et de sensibilité

Les valeurs obtenues dans les deux parties de l'étude de validation (étude comparative des méthodes et étude interlaboratoire) sont reportées dans le tableau 12 :

Tableau 12 - Comparaison des valeurs obtenues lors de l'étude interlaboratoire avec celles obtenues dans le cadre de l'étude préliminaire, pour la méthode alternative

	Etude collaborative	Etude préliminaire
Exactitude relative (AC)	100	96,8
Sensibilité (SE)	100	98,1
Spécificité (SP)	100	95,7

3.5.2 Degré d'accord (DA)

Les degrés d'accord pour la méthode de référence et la méthode alternative et pour chaque niveau sont reportés ci-après :

Niveau	Méthode de référence	Méthode alternative
L0	DA % = 100	DA % = 100
L1	DA % = 100	DA % = 100
L2	DA % = 100	DA % = 100

3.5.3 Concordance

Les pourcentages de concordance pour la méthode de référence et la méthode alternative, à chaque niveau, sont repris dans le tableau ci-après :

Niveau	Méthode de référence	Méthode alternative
L0	Concordance % = 98,8*	Concordance % = 98,8*
L1	Concordance % = 100	Concordance % = 100
L2	Concordance % = 100	Concordance % = 100

* Le pourcentage de concordance est lié au fait que le laboratoire D a analysé uniquement sept échantillons pour ce niveau.

3.5.4 Odds Ratio (COR)

Il est calculé selon la formule suivante :

$$COR = \frac{\text{degré d'accord } x\ (100 - concordance)}{concordance\ x(100 - \text{degré d'accord})}$$

Les Odds ratio pour la méthode de référence et la méthode alternative sont ci-après :

Niveau	Méthode de référence	Méthode alternative
L0	COR = 1,01	COR = 1,01
L1	COR = 1,00	COR = 1,00
L2	COR = 1,00	COR = 1,00

4 CONCLUSION

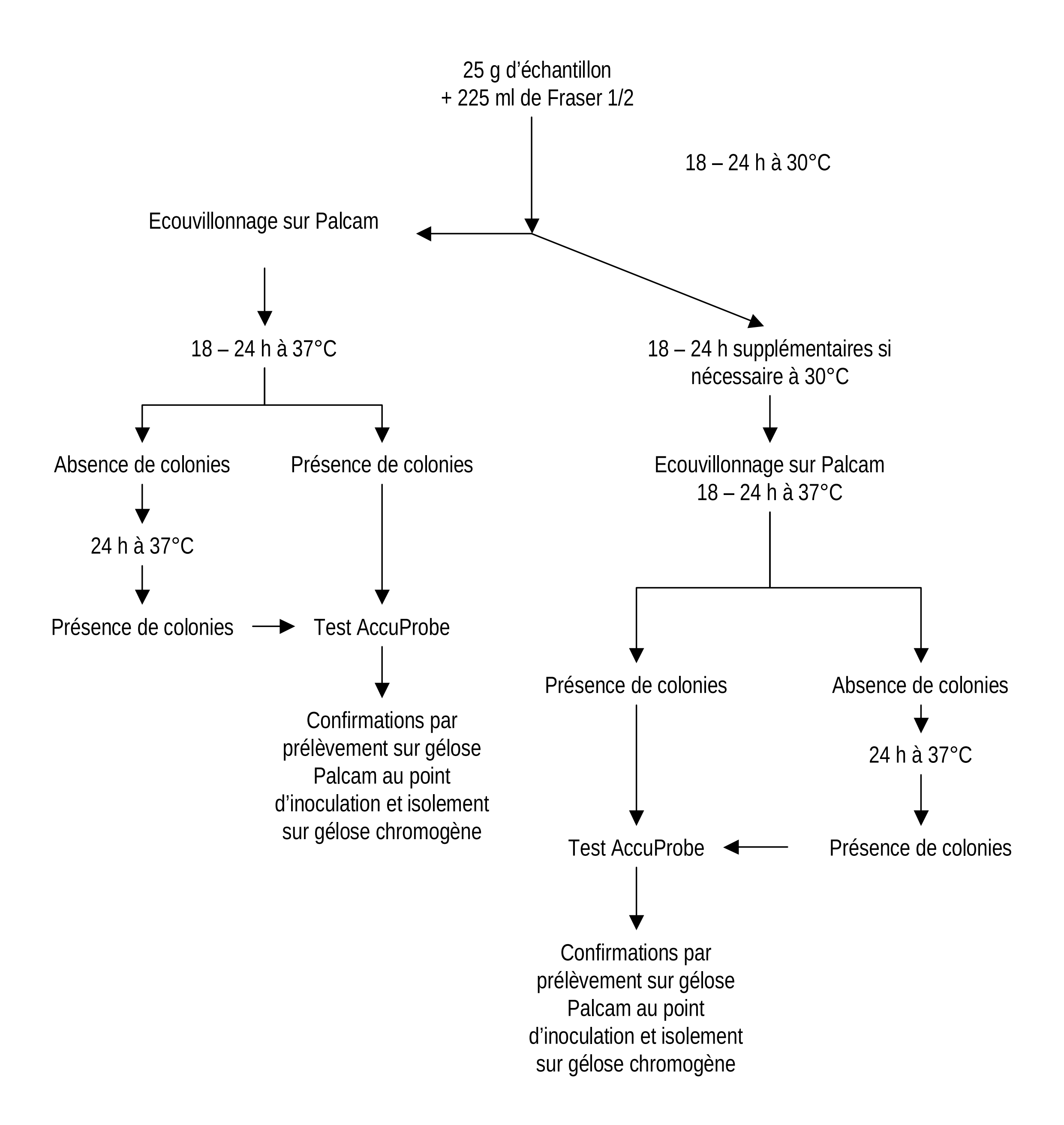
Les **conclusions de l'étude préliminaire** sont les suivantes :

- ✓ ***Exactitude, spécificité et sensibilité relative :*** la méthode AccuProbe montre des résultats comparables, voire supérieurs à ceux de la méthode de reférence.
- ✓ ***Niveau de détection relatif*** **:** les niveaux de détection relatifs de la méthode AccuProbe sont identiques à ceux de la méthode de référence.
- ✓ ***Inclusivité / exclusivité*** **:** la méthode AccuProbe est spécifique et sélective.
- ✓ ***Praticabilité*** **:** lors de l'analyse d'échantillons positifs, la méthode AccuProbe :
  - offre un gain de temps de manipulation,
  - diminue le délai de réponse.

Les **conclusions de l'étude interlaboratoire** sont les suivantes :

- ✓ ***La variabilité de la méthode alternative (degré d'accord, concordance, odds ratio) est équivalente à celle de la méthode de référence.***

Annexe 1 - Méthode AccuProbe *Listeria monocytogenes Ref. 39500*



TEST D'IDENTIFICATION DE LISTERIA MONOCYTOGENES ISOLÉE PAR CULTURE
(bioMérieux réf. 39500 / Gen-Probe Cat. No. 2920)

UTILISATION

Le TEST AccuProbe Listeria monocytogenes est un test rapide d'identification de Listeria monocytogenes par sonde ADN à partir de culture ou de pré-enrichissement. Ce test utilise la technique d'hybridation des acides nucléiques.
Un protocole de détection est également proposé et a été validé par l'AFNOR sous la référence N° BIO 12/4-02/95 (voir paragraphe CONTROLE MICROBIOLOGIQUE paragraph C).

INTRODUCTION

Listeria monocytogenes est un microorganisme d'origine tellurique qui a été dispersé dans l'environnement. On le trouve dans l'eau, les produits agricoles et chez les animaux. Microorganisme pathogène de l'homme connu depuis plus de 50 ans, L. monocytogenes est l'agent étiologique de la listériose, laquelle provoque méningites, encéphalites, septicémies, endocardites, avortements, abcès et lésions locales purulentes chez l'homme (2,4). Au cours de la dernière décennie, plusieurs épidémies de listériose ont été rattachées à la consommation de nourriture contaminée. Les femmes enceintes, les nouveau-nés, les patients immuno-déficients et les personnes âgées sont les plus exposés au risque de contracter une listériose (5).
En routine, l'identification de L. monocytogenes repose sur des méthodes physiologiques et biochimiques: morphologie, coloration de Gram, catalase, mobilité, béta-hémolyse sur gélose au sang et fermentation des sucres (8).
Le TEST AccuProbe Listeria monocytogenes permet la mise en évidence de Listeria monocytogenes en 35 minutes après préparation de l'échantillon.

PRINCIPE

Les tests par hybridation d'acides nucléiques sont basés sur la capacité de brins complémentaires d'acides nucléiques à s'apparier de manière spécifique pour former des complexes bicaténaires stables (6). La méthode AccuProbe utilise une sonde ADN monocaténaire conjuguée à un marqueur chimiluminescent complémentaire de l'ARN ribosomal (ARNr) de l'organisme cible. Lorsque l'ARNr de l'organisme cible est libéré, la sonde s'hybride avec celui-ci pour former un complexe ADN-ARN stable. Le Réactif de Sélection permet de différencier les sondes hybridées des sondes non hybridées. Le luminomètre GEN-PROBE permet de mesurer le signal lumineux émis par les hybrides ADN-ARN. Le résultat est positif si le luminomètre indique une valeur supérieure ou égale à la valeur seuil; le résultat est négatif s'il indique une valeur inférieure.

RÉACTIFS

Les réactifs utilisés pour le TEST AccuProbe Listeria monocytogenes sont fournis dans trois coffrets distincts:

COFFRET ACCUPROBE LISTERIA MONOCYTOGENES

(bioMérieux ref. 39500 / Gen-Probe Cat. No. 2920)
Réactif Sonde (P)   (4 x 5 tubes)
Listeria monocytogenes.

COFFRET DE RÉACTIFS POUR IDENTIFICATION DE CULTURES ACCUPROBE

(bioMérieux réf. 39305 / Gen-Probe Cat. No. 2800)
Réactif 1 (Réactif de Lyse) (1) 1 x 10 ml
Solution tamponnée contenant 0,04% d'azide de sodium.
Réactif 2 (Tampon d'Hybridation) (2) 1 x 10 ml
Solution tamponnée.
Réactif 3 (Réactif de Sélection) (3) 1 x 60 ml
Solution tamponnée.

COFFRET DE RÉACTIFS DE DÉTECTION GEN-PROBE

(bioMérieux réf. 39300 / Gen-Probe Cat. No. 1791)
Réactif de Détection I (RI) 1 x 240 ml
0,1% d'eau oxygénée dans de l'acide nitrique 0,001 N.
Réactif de Détection II (RII) 1 x 240 ml
Hydroxyde de sodium 1 N.

PRÉCAUTIONS D'UTILISATION

A. Pour diagnostic in vitro ou pour la microbiologie industrielle.
B. Observer les précautions habituelles lors de la réalisation de ce test (3).
C. A utiliser uniquement pour l'identification de L. monocytogenes à partir d'une culture.
D. Utiliser uniquement le matériel fourni ou du matériel à usage unique.
E. Certains réactifs utilisés dans ce test contiennent de l'azide de sodium susceptible de former, par réaction avec le plomb ou le cuivre des canalisations, des azides métalliques explosifs. Lors de l'élimination de ces réactifs, prendre soin de toujours rincer abondamment à l'eau pour prévenir la formation d'azide dans la plomberie.
F. Eviter le contact des Réactifs de Détection I et II avec la peau, les yeux et les muqueuses. En cas de contact, rincer à l'eau. Si ces réactifs sont renversés, les diluer avec de l'eau avant d'essuyer.
G. Pour obtenir des performances optimales, il est recommandé avant de commencer le test de regarder si le produit s'est déplacé . Si c'est le cas, taper le tube par le haut pour faire descendre le contenu au fond du tube.

CONSERVATION

Les tubes de Réactif Sonde doivent être conservés dans leur sachet en aluminium à 2° - 8°C. Ils sont stables avant ouverture jusqu'à la date de péremption. Après ouverture, le sachet doit être refermé hermétiquement et les tubes restants utilisés dans un délai de deux mois, dans la limite de la date de péremption.
Les autres réactifs du TEST AccuProbe Listeria monocytogenes peuvent être conservés entre 2° et 25°C et sont stables jusqu'à la date de péremption.

NE PAS CONGELER LES REACTIFS

PREPARATION DE L'ECHANTILLON

Le TEST AccuProbe Listeria monocytogenes est conçu pour identifier
L. monocytogenes isolée à partir d'une culture. La détection de L. monocytogenes dans les aliments se fait après une phase de pré-enrichissement.

DIAGNOSTIC IN VITRO

A. Identification à partir de culture sur milieu solide. Le test peut être pratiqué sur des cultures réalisées sur un milieu solide approprié, comme une gélose à 5% de sang de mouton, une infusion coeur-cervelle ou une gélose chocolat. Des milieux sélectifs comme la gélose McBride et la gélose LPM (Remel) peuvent également être utilisés. L'échantillon peut être testé dès que les colonies sont visibles et au cours des 72 heures suivantes.
   1. L'échantillon peut être prélevé à l'aide d'une oese en plastique jetable de 1 µl, d'une oese métallique, d'une aiguille en plastique jetable ou d'un bâtonnet applicateur. Ne pas utiliser d'écouvillon en raison du faible volume de liquide dans lequel les bactéries vont être remises en suspension.
   2. Il est possible de tester soit plusieurs petites colonies (3 ou 4), soit le contenu d'une oese de 1 µl, soit une seule colonie d'un diamètre d'au moins 1 mm.
   3. Eviter de prélever du milieu de culture en même temps que les bactéries.
   4. Le manipulateur peut décider d'ensemencer une autre boîte de Pétri pour confirmer la pureté de l'échantillon isolé.

B. Identification à partir de bouillon de culture. Le test peut être pratiqué à partir de bouillons de culture appropriés, comme le bouillon trypticase-soja, le bouillon coeur-cervelle ou le bouillon d'enrichissement pour Listeria LEB (Listeria Enrichment Broth), dont la turbidité doit être supérieure ou égale à 1 unité McFarland. Prélever à la pipette un échantillon de 50 µl de la suspension du bouillon parfaitement homogénéisé, et le distribuer dans le tube de Réactif Sonde en suivant les instructions du paragraphe « MODE OPERATOIRE ».

CONTROLE MICROBIOLOGIQUE

Le protocole décrit au paragraphe C de ce chapitre est validé par L'AFNOR (Association Française de Normalisation).

A. Identification ou détection à partir de culture sur milieu solide. Le test peut être pratiqué sur des colonies isolées sur un milieu solide approprié (gélose à 5% de sang de mouton, géloses PALCAM, Oxford ou McBride). La culture doit avoir moins de 72 heures et peut être testée dès que les colonies sont visibles.
   1. L'échantillon peut être prélevé à l'aide d'une oese en plastique jetable de 1 µl, d'une oese métallique, d'une aiguille en plastique jetable d 'une pipette Pasteur boutonnée ou d'un bâtonnet applicateur. Ne pas utiliser d'écouvillon en raison du faible volume de liquide dans lequel les bactéries vont être remises en suspension.
   2. Il est possible de tester soit plusieurs petites colonies (3 ou 4), soit une seule colonie d'un diamètre d'au moins 1 mm (1 colonie contient de 1011 à 1012 bactéries), soit de prélever au point d'inoculation (oese de 1 µl).
   3. Eviter de prélever du milieu de culture avec les bactéries.
   4. Prélever, selon la richesse de la culture, soit l'ensemble des colonies présentes, soit celles présentes dans la zone d'inoculation.
   5. L'opérateur peut décider d'ensemencer une autre boîte de Pétri pour confirmer la pureté de l'échantillon isolé.

B. Identification à partir de bouillon de culture. Le test peut être pratiqué directement à partir d'un bouillon de culture approprié. Selon des études réalisées sur différents milieux (1, 7), seuls certains bouillons peuvent être utilisés directement. Des bouillons non-sélectifs comme les bouillons cœur-cervelle, trypticase-soja, Listeria Enrichment Broth ou Todd-Hewitt donnent de bons résultats tandis que certains plus sélectifs (L. PALCAMY, UVM, Fraser) diminuent la sensibilité du test, pouvant donner des résultats

faussement négatifs. L'incubation doit être poursuivie pendant 48 heures à 30°C. L'utilisation de bouillons Fraser, UVM, L. PALCAMY impose la réalisation d'une subculture sur milieu solide.
Prélever 50 µl du bouillon de culture bien homogénéisé et les mettre dans le tube de Réactif Sonde suivant les instructions du paragraphe C du Mode Opératoire.

C. PROTOCOLE VALIDE AFNOR N° BIO 12/4-02/95 (valide jusqu'au 07/02/2011) POUR TOUS PRODUITS ALIMENTAIRES ET ECHANTILLONS D'ENVIRONNEMENT.

J0 — 1. Homogénéiser 25 g d'échantillon dans 225 ml de bouillon Fraser demi puis incuber pendant 18-24 heures à 30° ± 1°C.

J0 + 24h — 2. Après incubation, ensemencer le bouillon d'enrichissement à l'aide d'un écouvillon par la méthode en strie large sur une gélose Palcam (tous produits alimentaires et échantillons d'environnement) ou Oxford (produits laitiers) et l'incuber 18-24 heures à 37° ± 1°C (gélose N 1).
3. L'incubation du bouillon Fraser demi est prolongée de 18-24 heures à 30° ± 1°C.

J0 + 48h — 4. Après 18-24 heures d'incubation à 37° ± 1°C de la gélose N° 1, la détection de Listeria monocytogenes est faite à partir des colonies caractéristiques ou non caractéristiques développées sur la gélose sélective, selon le protocole décrit dans la partie A de ce chapitre et en se rapportant au chapitre «MODE OPERATOIRE». En l'absence de colonies sur la boite prolonger l'incubation de la gélose N° 1 pendant 18-24H supplémentaires à 37° ± 1°C.
5. En cas de test Accuprobe négatif (gélose N° 1) ou en l'absence de colonie sur la gélose N° 1 , ensemencer une nouvelle gélose sélective (gélose N° 2) à partir du bouillon Fraser-demi, incubé pendant 48 heures. Incuber la gélose pendant 24 heures à 37° ± 1°C.

J0 + 72h — 6. Après 48 heures d'incubation (gélose N° 1) ou 24 heures d'incubation (gélose N° 2), procéder à la détection de Listeria monocytogenes selon le protocole décrit dans la partie A de ce chapitre et en se rapportant au chapitre «MODE OPERATOIRE».

Confirmation des résultats positifs : dans le cadre du protocole validé AFNOR, tout résultat trouvé positif par la méthode AccuProbe doit être confirmé. La confirmation sera réalisée grâce à l'une des trois options suivantes :

l par la mise en œuvre des tests classiques décrits dans les méthodes normalisées par le CEN, l'ISO ou l'AFNOR (en incluant l'étape de purification),

2 par l'utilisation d'un milieu chromogène utilisé dans une méthode ayant fait l'objet d'une validation AFNOR. A l'aide d'une oese de 1µl, prélever au point d'inoculation sur la boite PALCAM ayant donné un résultat Accuprobe positif et procéder à un isolement sur milieu chromogène. Incuber les boites dans les conditions de durée et de température indiquées dans les notices des fabricants. La présence de colonies caractéristiques isolées confirme le résultat positif du test Accuprobe. Les milieux chromogènes suivants ont été testés dans le cadre de la validation AFNOR de 2003 : Compass L. Mono Agar, Chromagar Listeria, ALOA et Rapid' L. Mono.

3 par l'utilisation de toute autre méthode validée AFNOR, de principe différents de celui de la méthode Accuprobe. Le protocole validé de la seconde méthode devra être respecté dans son ensemble.

En cas de résultats discordants (positif par la méthode alternative, non confirmé par les tests décrits dans les méthodes normalisées par le CEN, l'ISO ou l'AFNOR, ou après isolement sur

milieu chromogène ou par une autre méthode validée AFNOR), le laboratoire devra mettre en œuvre les moyens suffisants pour s'assurer de la validité du résultat attendu. Dans le cas de l'utilisation d'un milieu chromogène, nous conseillons de prolonger l'incubation de 24H supplémentaires ou de procéder à un second isolement éventuellement sur un milieu chromogène différent en repartant du milieu Palcam.

MATÉRIEL FOURNI

TEST AccuProbe Listeria monocytogenes
(bioMérieux réf. 39500 / Gen-Probe Cat. No. 2920)
20 Tests
Réactif Sonde (P) 4 x 5 tubes

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Oeses de 1 µl en plastique stériles, oeses métalliques, aiguilles en plastique, pipettes Pasteur boutonnées ou bâtonnets applicateurs pour prélever les colonies.
Souches de contrôle
Incubateur ou bain-marie (37° ± 1°C)
Bain-marie ou bloc chauffant* (60° ± 1°C)
Micropipettes (50 µl, 300 µl)
Pipettes répétitives (50 µl, 300 µl)
Vortex
* Les emplacements à l'intérieur du bloc chauffant doivent être adaptés à des tubes de 12 X 75 mm. L'utilisation des blocs chauffants GEN-PROBE est recommandée.
MATERIEL SUPPLEMENTAIRE DISPONIBLE CHEZ VOTRE DISTRIBUTEUR GEN-PROBE:
Luminomètre GEN-PROBE LEADER 50i
(bioMérieux réf. 39400 / Gen-Probe Cat. No. 3100i)
Bloc chauffant GEN-PROBE (60° ± 1°C)
(bioMérieux réf. 39406 / Gen-Probe Cat. No. 3397)
COFFRET DE RÉACTIFS POUR IDENTIFICATION DE CULTURES AccuProbe
(bioMérieux réf. 39305 / Gen-Probe Cat. No. 2800)
COFFRET DE REACTIFS DE DETECTION GEN-PROBE
(bioMérieux réf. 39300 / Gen-Probe Cat. No. 1791)

MODE OPERATOIRE

A. PREPARATION DU MATERIEL
1. Régler l'incubateur ou le bain-marie à 37° ± 1°C.
2. Régler le bain marie ou le bloc chauffant à 60° ± 1°C.
3. Préparer le luminomètre GEN-PROBE. S'assurer que la quantité de Réactifs de Détection I et II est suffisante pour pratiquer les tests.

B. CONTROLES
Des souches de contrôle positif et négatif doivent être testées en routine dans chaque laboratoire, selon la réglementation en vigueur. Une culture de L. monocytogenes (American Type Culture Collection, ATCC 35152) peut être utilisée comme contrôle positif et une culture de Listeria grayi (ATCC 19120) peut être utilisée comme contrôle négatif.

C. PREPARATION DES ECHANTILLONS POUR HYBRIDATION
1. Découper horizontalement la partie supérieure des sachets en aluminium. Retirer le nombre nécessaire de tubes de Réactif Sonde pour tester les échantillons et/ou les souches de contrôle. Refermer le sachet hermétiquement en rabattant plusieurs fois

son extrémité et en la fixant par un ruban adhésif ou une pince. Ne pas retirer le sachet dessiccant.

2. Identifier un nombre suffisant de tubes de Réactif Sonde pour tester les échantillons et les souches de contrôle. Oter et conserver les bouchons.
3. Distribuer 50 µl du Réactif 1 (Réactif de Lyse) dans chaque tube de Réactif Sonde. Si le test est pratiqué sur des souches isolées à partir de bouillon de culture, ne pas ajouter de Réactif 1 dans les tubes de Réactif Sonde.
4. Transférer l'échantillon provenant du milieu solide ou 50 µl du bouillon de culture correctement homogénéisé dans les tubes de Réactif Sonde suivant les instructions du chapitre « PREPARATION DE L'ECHANTILLON ». Si le test est réalisé à partir d'un milieu solide, agiter l'oese ou l'aiguille dans le Réactif 1 pour remettre les microorganismes en suspension.
5. Reboucher les tubes de Réactif Sonde et les incuber à 37° ± 1°C, pendant 5 minutes dans un bain-marie ou pendant 10 minutes dans un incubateur.

D. HYBRIDATION

1. Retirer les tubes de Réactif Sonde du bain-marie ou de l'incubateur. Oter et conserver les bouchons. Distribuer 50 µl de Réactif 2 (Tampon d'Hybridation) dans chaque tube de Réactif Sonde.
2. Reboucher les tubes de Réactif Sonde et les incuber pendant 15 minutes dans le bain-marie ou le bloc chauffant à 60° ± 1°C.

E. SELECTION

1. Retirer les tubes de Réactif Sonde du bain-marie ou de l'incubateur. Oter et conserver les bouchons. Distribuer 300 µl de Réactif 3 (Réactif de Sélection) dans chaque tube. Refermer les tubes et les agiter à l'aide d'un vortex jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène.
2. Incuber les tubes de Réactif Sonde pendant 5 min dans le bain-marie ou le bloc chauffant à 60° ± 1°C.
3. Retirer les tubes du bain-marie ou du bloc chauffant et les laisser revenir à température ambiante pendant au moins 5 minutes. Oter et jeter les bouchons. Lire les résultats à l'aide du luminomètre dans l'heure qui suit.

F. DETECTION

1. Sélectionner le protocole approprié sur le luminomètre.
2. Afin de retirer tout résidu de la surface des tubes, les essuyer à l'aide de papier absorbant humide. Placer ensuite les tubes dans le luminomètre et suivre les instructions du manuel d'utilisation.
3. Lorsque l'analyse est terminée, retirer les tubes du luminomètre.

<u>REMARQUES</u>

A. REACTIFS: le Réactif 2 (Tampon d'Hybridation) peut précipiter. Le chauffer et l'agiter à 35° - 60°C pour dissoudre le précipité.

B. TEMPERATURE: l'hybridation et la sélection sont des réactions thermo-dépendantes. Par conséquent, il est impératif de maintenir le bain-marie, l'incubateur ou le bloc chauffant à la température préconisée.

C. DUREE DES OPERATIONS:

1. La réaction d'hybridation doit être initiée dans l'heure qui suit l'introduction de l'échantillon et du Réactif 1 dans les tubes de Réactif Sonde.
2. Les réactions d'hybridation et de sélection sont dépendantes du temps. L'hybridation doit durer au moins 15 minutes, mais pas plus de 20 minutes. Pendant l'étape de SELECTION, incuber les tubes de Réactif Sonde pendant au moins 5 minutes, mais pas plus de 6 minutes.

D. BAIN-MARIE: le niveau d'eau doit être maintenu de manière à ce que la totalité du liquide réactionnel contenu dans les tubes de Réactif de Sonde soit immergée.

E. UTILISATION DU VORTEX: il est important d'avoir un mélange homogène lors de l'étape de SELECTION, plus particulièrement après l'addition du Réactif 3.

F. RESOLUTION D'INCIDENTS

1. Les valeurs élevées de contrôle négatif (Listeria grayi ATCC 19120), supérieures à 20.000 RLU (Relative Light Units) sur le luminomètre LEADER ou 600 PLU (Photometric Light Units) sur le luminomètre AccuLDR (anciennement PAL), peuvent être dûes soit à une homogénéisation insuffisante après l'addition du Réactif 3 (Réactif de Sélection), soit à la présence de différents types de colonies. Pour vérifier si l'on est en présence d'une culture mixte, repiquer une partie de l'échantillon sur un milieu de culture gélosé approprié et le mettre à incuber. Vérifier l 'aspect des colonies.
2. Des valeurs faibles de contrôle positif (Listeria monocytogenes ATCC 35152), inférieures à 50.000 RLU sur le luminomètre LEADER ou 1.500 PLU sur le luminomètre AccuLDR, peuvent être dûes à un nombre insuffisant de bactéries ou lorsque des cultures mixtes ou âgées sont testées. Pour vérifier si l'on est en présence d'une culture mixte, repiquer une partie de l'échantillon sur un milieu de culture gélosé approprié et le mettre à incuber. Vérifier l 'aspect des colonies.

RÉSULTATS

A. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les résultats du TEST AccuProbe Listeria monocytogenes sont interprétés en fonction d'une valeur seuil. Les échantillons produisant un signal lumineux de valeur supérieure ou égale à ce seuil sont considérés comme positifs. Les signaux lumineux inférieurs à ce seuil sont considérés comme négatifs. Lorsque le résultat est situé dans la zone d'incertitude, le test doit être répété. Si la seconde analyse donne toujours des résultats équivoques, il faut repiquer la souche afin de vérifier sa pureté.

	AccuLDR (anciennement PAL)	LEADER
Valeur seuil	1.500 PLU	50.000 RLU
Zone d'incertitude	1.200-1.499 PLU	40.000-49.999 RLU

B. CONTRÔLE DE QUALITÉ ET ACCEPTABILITÉ DES RESULTATS

Les contrôles négatifs (par ex. Listeria grayi, ATCC 19120) et positifs (par ex. Listeria monocytogenes, ATCC 35152) doivent satisfaire aux valeurs suivantes:

	AccuLDR (anciennement PAL)	LEADER
Contrôle négatif	< 600 PLU	< 20.000 RLU
Contrôle positif	> 1.500 PLU	> 50.000 RLU

Si les contrôles se trouvent en-dehors de ces zones, les résultats du test ne doivent pas être pris en considération.

LIMITES DU TEST

Cette méthode a été testée sur des cultures fraîches réalisées sur les milieux solides et sur les types de bouillons de culture cités dans le paragraphe « PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON ». Les performances de ce test n'ont pas été évaluées quand il est réalisé directement sur des échantillons cliniques (liquide céphalo-rachidien ou sang par exemple).
Les résultats du TEST D'IDENTIFICATION AccuProbe LISTERIA MONOCYTOGENES doivent être interprétés en fonction des autres données du laboratoire et corrélés avec les données cliniques.

VALEURS ATTENDUES

Le TEST AccuProbe Listeria monocytogenes a été comparé à des méthodes traditionnelles d'identification biochimique de culture sur 175 souches de L. monocytogenes et 102 autres souches appartenant à 21 genres différents. Une seconde évaluation a porté sur 296 souches isolées à partir de nourriture suspectée d'être contaminée. Les échantillons ont été déclarés soit positifs (> 50.000 RLU), soit négatifs (< 40.000 RLU). Les résultats observés allaient de 520 à 27.990 RLU pour les cultures négatives et de 77.088 à 1.283.789 RLU pour les cultures positives. La comparaison de ces résultats avec les méthodes d'identification traditionnelles figure dans les tableaux ci-dessous:

AccuProbe / IDENTIFICATION DE CULTURE

AccuProbe Culture	Pos Pos	Pos Nég	Nég Pos	Nég Nég	Sensibilité/ Spécificité	Taux de Concordance
Site 1	175	0	0	102	100% / 100%	100%
Site 2	81	1	0	214	100% / 99,5%	99,7%
Total	256	1	0	316	100% / 99,7%	99,8%

La seule souche AccuProbe -positive / Culture-négative du site 2 a été re-testée avec le test AccuProbe LISTERIA MONOCYTOGENES et a donné un résultat négatif.

PERFORMANCE DU TEST

A. PRÉCISION INTRA-ESSAI

La précision intra-essai du TEST AccuProbe Listeria monocytogenes a été calculée en testant trois concentrations différentes d'ARN ribosomal de L. monocytogenes. Chaque échantillon a été testé 10 fois dans une même série.

Echantillon	A	B	C
Nombre d'essais	10	10	10
Réponse moyenne (RLU)	132.370	72.720	41.074
Ecart-type	9.981	3.126	3.837
Coefficient de variation	7,5%	4,3%	9,3%

B. PRÉCISION INTER-ESSAI

La précision inter-essai a été calculée en analysant en simple les mêmes trois concentrations d'ARN ribosomal de L. monocytogenes au cours de 12 séries distinctes.

Echantillon	A	B	C
Nombre d'essais	12	12	12
Réponse moyenne (RLU)	146.469	77.240	41.074
Ecart-type	19.793	8.634	4.343
Coefficient de variation	13,5%	11,2%	10,8%

C. SPECIFICITE

Un total de 97 souches ATCC a été testé avec le TEST D'IDENTIFICATION AccuProbe Listeria monocytogenes. Ces souches représentaient au total 87 espèces issues de 53 genres différents. Un panel de 15 souches de 7 espèces de Listeria a été testé (L. grayi, L. innocua, L. ivanovii, L. monocytogenes, L. murrayi, L. seeligeri, L. welshimeri). Seules les souches de L. monocytogenes ont donné des résultats positifs avec le TEST D'IDENTIFICATION AccuProbe LISTERIA MONOCYTOGENES.

D. TEST DE SURCHARGE

5 séries de dilutions de L. monocytogenes (de 0 à 30 millions de microorganismes) ont été testées en présence de 30 millions de microorganismes d'espèces autres que L.

monocytogenes (L. grayi, L. ivanovii, Erysipelothrix rhusiopathiae, Brochothryx thermophacta). Aucune interférence ni réaction croisée n'a été observée.

E. PERFORMANCES SPECIFIQUES

Lors de la validation AFNOR, l'étude préliminaire a abouti aux résultats suivants:
-Inclusivité/exclusivité : 50 souches de Listeria monocytogenes ont été détectées sur 50 testées. L'étude de 18 souches de Listeria non monocytogenes et 12 souches n'appartenant pas au genre Listeria n'a pas mis en évidence de réactions croisées.
- Niveau de détection relatif : la limite de détection 50% est identique pour la méthode Accuprobe et la méthode EN ISO 11290-1 et est comprise entre 0.3 et 5.2 UFC/25 g.
- Etude comparative : sur 346 échantillons testés simultanément avec la méthode Accuprobe (gélose Palcam) et la méthode de EN ISO 11290-1, les résultats suivants ont été obtenus :

- Faux négatifs Accuprobe : 3
- Positifs supplémentaires Accuprobe : 8
- Résultats concordants : 335

Le paramètre AccuProbe Listeria monocytogenes est validé par AFAQ AFNOR Certification en tant que méthode alternative d'analyse pour tous produits alimentaires et échantillons d'environnement par rapport à la méthode de référence décrite dans la norme internationale EN ISO 11290-1/A1 et selon le référentiel EN ISO 16140.

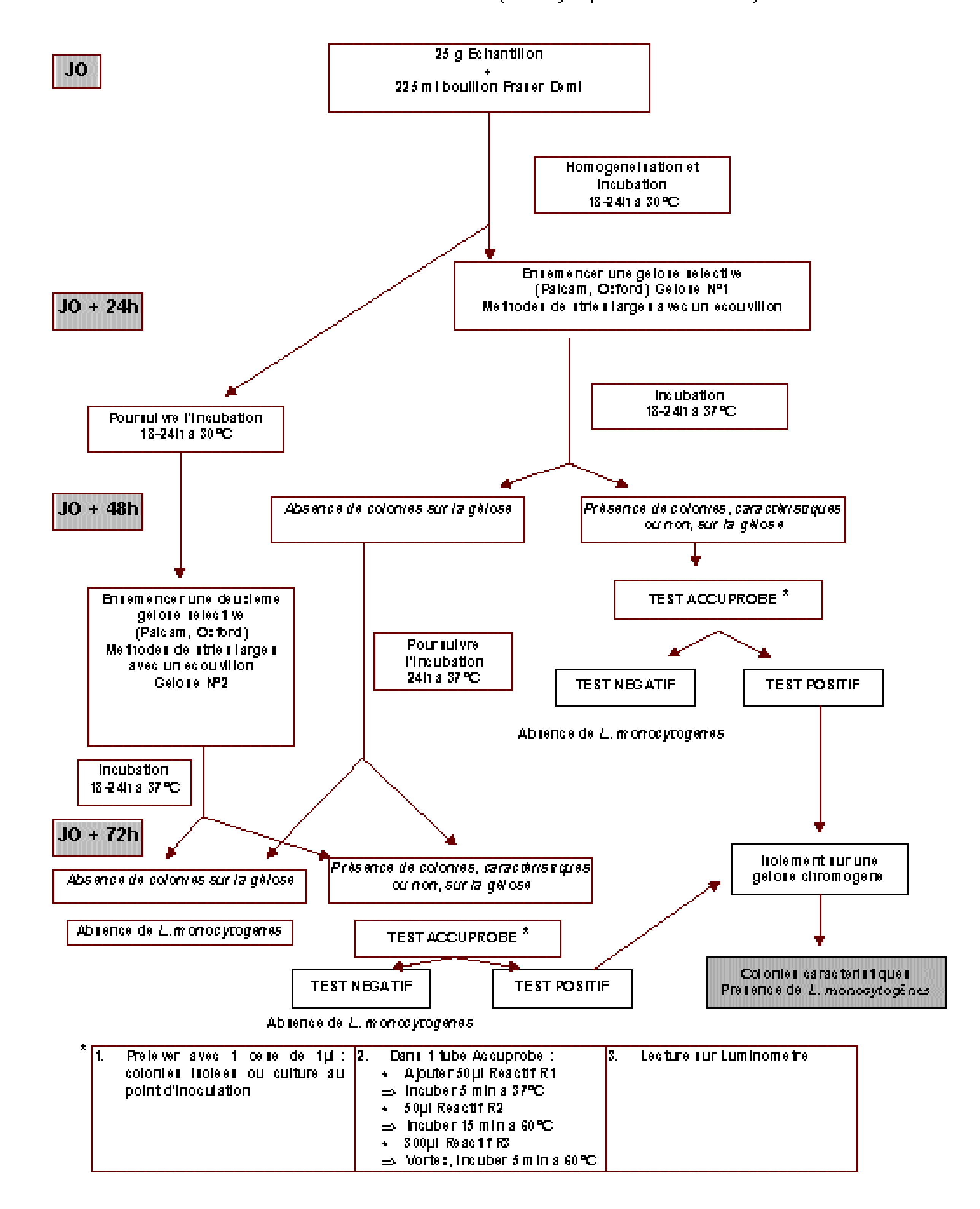
L'attestation BIO- 12/4 – 02/95 est valide jusqu'au 07 février 2011 et peut être obtenue auprès de notre service Assistance Technique.



BIO 12/4 – 02/95
METHODES ALTERNATIVES D'ANALYSE POUR L'AGROALIMENTAIRE
Certifié par AFAQ AFNOR Certification

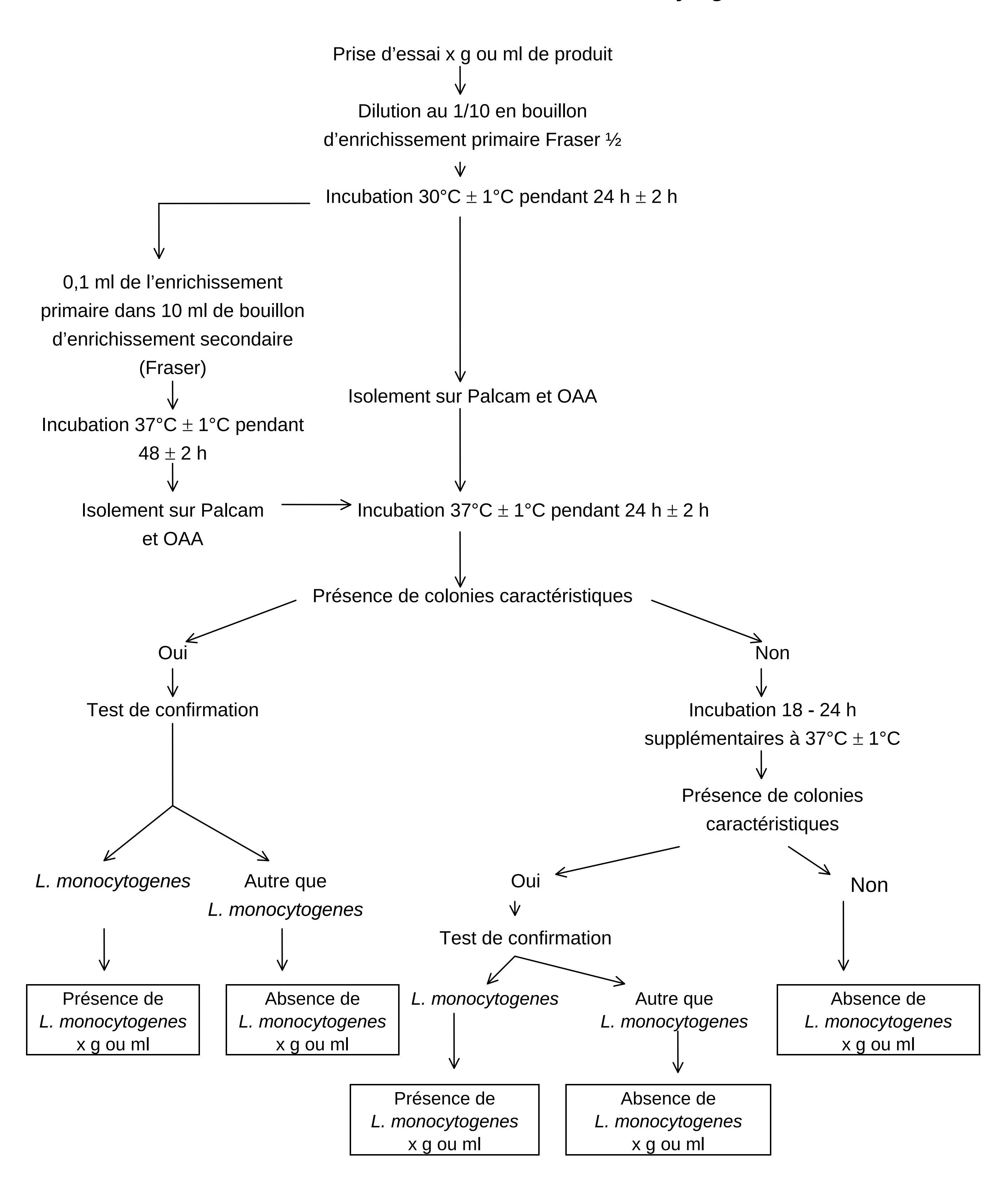
www.afnor.org

ANNEXE
PROTOCOLE DE LA
« METHODE RAPIDE DE DETECTION DE LISTERIA MONOCYTOGENES »
VALIDATION AFNOR N° BIO 12/4-02/95 (valide jusqu'au 7 Février 2007)



*		
1. Prelever avec 1 oese de 1µl : colonies isolees ou culture au point d'inoculation	2. Dans 1 tube Accuprobe : • Ajouter 50µl Reactif R1 ⇒ Incuber 5 min à 37°C • 50µl Reactif R2 ⇒ Incuber 15 min à 60°C • 300µl Reactif R3 ⇒ Vortex, Incuber 5 min à 60°C	3. Lecture sur Luminometre

Annexe 2 - Méthode de référence EN ISO 11290-1/A1 méthode de recherche de *Listeria monocytogenes*



Test de confirmation : Gram, Catalase, Hémolyse, Camp Test, Galerie API Listeria

Annexe 3 - Exactitude relative : résultats bruts

PRODUITS CARNES																	
Echantillons		EN ISO 11290-1					Méthode ACCUPROBE Listeria monocytogenes										Concordance ISO/Accuprobe
		Fraser 1/2		Fraser		Résultat	Fraser 1/2 24H					Fraser 1/2 48H					Fraser 1/2 48H
		OAA	PALCAM	OAA	PALCAM		Palcam					Palcam					
									Confirmation		Résultat			Confirmation		Résultat	
N°	Produit	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes		colonies suspectes	Test Accuprobe	OAA	Rapid'L.mono		colonies suspectes	Test Accuprobe	OAA	Rapid'L.mono		
402	Escalope de veau	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	=
403	Merguez	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
404	Merguez	+	+	+	+	+	+	+	-/+	+	+	+	/	/	/	/	=
405	Steak haché de veau	-	+	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	=
406	Poulet à la mexicaine	-	+	+	+	+	-	/	/	/	-	+	+	+	+	+	=
407	Chipolatas	-	+	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	=
408	Chipolatas	-	-	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	=
432	Escalope de veau haché	+	-	+	+	+	-	/	/	/	-	+	+	+	+	+	=
435	Poulet Korma	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
436	Poulet Korma	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
437	Canard sauce aigre douce	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
443	Escalope de veau haché	+	+	+	+	+	+	-	/	/	-	+	+	+	+	+	=
444	Escalope de veau haché	+	+	+	+	+	+	-	/	/	-	+	+	+	+	+	=
445	Escalope de veau haché	-	+	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	=
449	Steak	-	+	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	=
564	Brochettes de porc nature	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
565	Merguez	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
566	Jambon (viande crue)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
567	Epaule(viande crue)	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
585	Steak haché	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
586	Pintade	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
657	Chipolatas aux herbes	+	+	+	+	+	+	-	/	/	-	+	+	+	+	+	=
658	Saucisse Godiveau	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	=
659	Chorizo	-	+	-	-	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	=
660	Brochette de porc	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
667	Saucisses	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
668	Chipolatas	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+1col	+	+	+	+	PD
669	Chipolatas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
670	Chipolatas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
671	Chipolatas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
672	Escalopes de veau	-	-	-	+	-	+	-	/	/	-	+	+/-	-	-	-	=
891	Saucisse sèche	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	=
892	Lardons nature	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
893	Lardons fumés	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	=
894	Jambon	-	-	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	=
895	Jambon	-	+	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	=

PRODUITS CARNES																	
Echantillons		EN ISO 11290-1					Méthode ACCUPROBE Listeria monocytogenes										Concordance ISO/Accuprobe
		Fraser 1/2		Fraser		Résultat	Fraser 1/2 24H					Fraser 1/2 48H					Fraser 1/2 48H
N°	Produit	OAA	PALCAM	OAA	PALCAM		Palcam					Palcam					
		colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes		colonies suspectes	Test Accuprobe	Confirmation OAA	Confirmation Rapid'L.mono	Résultat	colonies suspectes	Test Accuprobe	Confirmation OAA	Confirmation Rapid'L.mono	Résultat	
896	Pancetta	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	=
897	Chorizo	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	=
898	Mortadelle	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	=
899	Saucisse sèche	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	=
900	Travers de porc	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	=
901	Saucisse de Montbéliard	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	=
902	Lardons nature	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	=
903	Lard fumé	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	=
904	Chorizo	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	=
905	Saucisse de Morteau	-	+	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	=
906	Andouille de Guéméné	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	=
907	Saucisse de jambon	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	=
908	Beignets de crevettes	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	=
911	Coppa	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	=
912	Foie gras de canard entier	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	=
913	Lardons nature	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	=
914	Saucisse pistachée	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	=
1079	Chorizo	-	+	-	-	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	=
1089	Pintade	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
1090	Chipolatas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
1091	Saucisse godiveau	-	+	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	=
1092	Collier	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
1093	Steak haché	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	=
1094	Jambon	-	+	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	=
1095	Epaule	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	=
1096	Chipolatas	-	-	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	=
1098	Merguez	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
1099	Lardons fumés	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
1100	Merguez	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
1101	Merguez	-	+	-	+	-	+	/	/	/	-	+	-	/	/	-	=
1102	Chipo aux herbes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
1108	Pâté campagne	-	+	-	+	-	+	/	/	/	-	+	-	/	/	-	=
1109	Rillettes	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	=
1110	Chipolatas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
1111	Emincés de poulet	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	/	=
1112	Saucisse	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	=
1113	Gras de bœuf	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	=

En gras : échantillons artificiellement contaminés (n° et produit)

PRODUITS LAITIERS																														
Echantillons		EN ISO 11290EN ISO 11290-1					Méthode ACCUPROBE L.monocytogenes																						Concordance F1/2 48H	
		Fraser 1/2		Fraser			Fraser 1/2 -24H										Fraser 1/2 -48H										Résultat final			
		OAA	PALCAM	OAA	PALCAM		Oxford					Palcam					Oxford					Palcam								
									Confirmation					Confirmation					Confirmation					Confirmation						
N°	Produit	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes	Résultat	colonies suspectes	Test Accuprobe	OAA	Rapid' L.mono	Résultat	colonies suspectes	Test Accuprobe	OAA	Rapid' L.mono	Résultat	colonies suspectes	Test Accuprobe	OAA	Rapid' L.mono	Résultat	colonies suspectes	Test Accuprobe	OAA	Rapid' L.mono	Résultat	Oxford	Palcam	ISO/ Accuprobe Oxford	ISO/ Accuprobe Palcam
421	Fromage à pâte cuite	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	PD	PD
427	Lait cru	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
428	Lait cru	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
431	Fromage à pâte cuite	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
433	Bleu	+	+	+	+	+	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	=	=
434	Fromage à pâte molle	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
438	Tsaziki	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
439	Beurre de baratte	+	+	+	+	+	+	-	/	/	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	+	=	=
440	Bleu	+	+	+	+	+	+	-	/	/	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	+	=	=
441	Bleu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
442	Fromage à pâte molle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
448	Bleu	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
570	Tome au lait cru	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+/-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	-	=	=
571	Fromage non affiné au lait cru	+	+	+	+	+	-	/	/	/	-	+	+	+	+	+	+	-	/	/	-	+	+	+	+	+	-	+	ND	=
572	Fromage non affiné au lait cru	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
573	Fromage affiné au lait cru	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
574	Fromage non affiné au lait cru	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
575	Fromage affiné au lait cru	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
576	Fromage non affiné au lait cru	-	+	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	-	=	=
577	Tome au lait cru	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
578	Tome au lait cru	-	+	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	-	=	=
579	Lait de brebis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
580	Poudre de lait RAEMA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
581	Poudre de lait RAEMA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
582	Poudre de lait RAEMA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
583	Poudre de lait RAEMA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
662	Fromage au lait cru	-	+	-	-	-	+ 1col	-	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	-	=	=
663	Fromage au lait cru	-	-	-	-	-	+	+	-/-	-/-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
664	Fromage au lait cru	+	-	-	-	-	-	-	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
665	Fromage au lait cru	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=

PRODUITS LAITIERS

Echantillons		EN ISO 11290EN ISO 11290-1					Méthode ACCUPROBE L.monocytogenes																						Concordance F1/2 48H	
		Fraser 1/2		Fraser			Fraser 1/2 -24H										Fraser 1/2 -48H										Résultat final			
		OAA	PALCAM	OAA	PALCAM		Oxford					Palcam					Oxford					Palcam								
									Confirmation					Confirmation					Confirmation					Confirmation						
N°	Produit	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes	Résultat	colonies suspectes	Test Accuprobe	OAA	Rapid' L.mono	Résultat	colonies suspectes	Test Accuprobe	OAA	Rapid' L.mono	Résultat	colonies suspectes	Test Accuprobe	OAA	Rapid' L.mono	Résultat	colonies suspectes	Test Accuprobe	OAA	Rapid' L.mono	Résultat	Oxford	Palcam	ISO/ Accuprobe Oxford	ISO/ Accuprobe Palcam
666	Fromage au lait cru	-	+	-	+	-	+	-	/	/	-	-	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	-	=	=
963	Lait cru	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
964	Lait cru	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
965	Lait cru	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
966	Lait cru	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
967	Poudre de lait	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
968	Poudre de lait	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	+	+/-	+	+	+	-	/	/	/	-	+	-	PD	=
969	Poudre de lait	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	PD	PD
970	Poudre de lait	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
971	Brie	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
972	Fromage de chèvre	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
973	Camembert au lait cru	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
974	Chèvre frais	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
1126	Lait de brebis	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
1127	Flan noix de coco	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
1128	Fromage	-	+	-	-	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	-	=	=
1129	Livarot	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	-	=	=
1130	Leerdamer	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	-	=	=
1131	Raclette	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	-	=	=
1132	Reblochon pasteurisé	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
1133	Lait cru	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
1134	Lait fermenté	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
1135	Camembert	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
1136	Lait ribot	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	-	=	=
1367	Lait cru	-	-	+	+	+	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	=	=
1368	Crème anglaise	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
1369	Lait cru	-	-	+	+	+	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	-	ND	ND
1370	Lait cru	-	+	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
1371	Tiramisu	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	-	=	=
1372	Glace vanille	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	-	=	=
1373	Lait fermenté	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	+	+	+	+	+	+	-	/	/	-	+	/	/	/	/	-	+	=	PD
1374	Millefeuille	-	+	+	+	+	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	-	ND	ND
1375	Lait cru	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	-	=	=
1900	Fromage au lait cru	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
1901	Fromage au lait cru	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
1902	Fromage au lait cru	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
1903	Bleu au lait cru	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=
1904	Fromage au lait cru	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	/	/	/	/	+	+	=	=

En gras : échantillons artificiellement contaminés (n° et produit)

PRODUITS DE LA MER																			
Echantillons		NF EN ISO 11290-1					Méthode ACCUPROBE Listeria monocytogenes											Concordance ISO/Accuprobe	
		Fraser 1/2		Fraser		Résultat	Fraser 1/2 24H					Fraser 1/2 48H					Résultat final	Fraser 1/2 24H	Fraser 1/2 48H
		OAA	PALCAM	OAA	PALCAM		Palcam					Palcam							
Numéro	Produit	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes		Colonies suspectes	Test Accuprobe	Confirmation OAA	Confirmation Rapid'L.mono	Résultat	Colonies suspectes	Test Accuprobe	Confirmation OAA	Confirmation Rapid'L.mono	Résultat			
409	Paëlla	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
410	Saumon fumé	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
411	Cocktail de fruits de mer	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
412	Cocktail de fruits de mer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
413	Moules surgelées	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
414	Moules surgelées	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
415	Surimi au saumon	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
430	Cocktail de crevettes	-	-	+?	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
568	Riz au thon	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
788	Saumon fumé	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
789	Cubes de saumon fumé	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
909	Pâtés impériaux	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=	=
910	Nems aux crevettes et crabe	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=	=
915	Cocktail de fruits de mer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
916	Loup de mer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
917	Saumon fumé	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
918	Saumon fumé	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
919	Merlu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
920	Merlu	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
921	Cocktail de la mer	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
922	Filet de poisson cru	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
931	*Nuggets de poisson*	-	+	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	-	-	-	-	=	=
932	*Hoki pané*	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	+/-	+	-	+	+	=	PD
933	*Merlan pané*	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=	=
934	*Coquilles St Jacques*	-	-	+	+	+	-	/	/	/	-	+	+	+	+	+	+	ND	=
935	*Filet de Julienne*	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	=	=
936	*Pané de colin*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
937	*Filet de sardine*	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
938	*Boudin de merlu*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
1080	Salade au surimi	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
1082	Saumon fumé	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
1097	Saumon fumé	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
1105	Filet de lieu jaune	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
1117	Torti au surimi	-	+	-	-	+	+	-	/	/	-	+	+	+	+	+	+	ND	=
1125	Coktail de crevettes	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=	=
1248	Cocktail de crevettes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=	=
1252	Salade Alaska	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=	=
1256	Saumon à l'oseille	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=	=
1257	Surimi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=	=

PRODUITS DE LA MER																			
Echantillons		NF EN ISO 11290-1					Méthode ACCUPROBE Listeria monocytogenes											Concordance ISO/Accuprobe	
		Fraser 1/2		Fraser		Résultat	Fraser 1/2 24H					Fraser 1/2 48H					Résultat final	Fraser 1/2 24H	Fraser 1/2 48H
		OAA	PALCAM	OAA	PALCAM		Palcam					Palcam							
							Colonies	Test	Confirmation		Résultat	Colonies	Test	Confirmation		Résultat			
Numéro	Produit	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes		suspectes	Accuprobe	OAA	Rapid'L.mono		suspectes	Accuprobe	OAA	Rapid'L.mono				
1258	Saumon fumé	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=	=
1259	Coktail de crevettes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=	=
1260	Roulé de surimi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=	=
1261	Filet de colin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=	=
1262	Boudin de merlu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=	=
1263	Brochet farci	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=	=
1359	Moules	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	+	+	+	+	+	+	=	PD
1360	Saumon fumé	-	-	+	+	+	-	/	/	/	-	+	+	+	+	+	+	ND	=
1361	Coktail de fruits de mer	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
1362	Salade de gambas	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
1363	Saumon fumé	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
1364	Bar	-	-	+	+	+	-	/	/	/	-	+	+	+	+	+	+	ND	=
1365	Filet de dorade	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
1366	Filet de haddock	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	=	=
1380	Salade marco polo	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
1381	Taboulé aux crevettes	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=	=
1382	Salade du pêcheur	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
1447	Poissonnette de colin	-	-	+	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=	=
1448	Filet de cabillaud	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
1508	Salade crevettes surimi	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=	=
1509	Salade aux fruits de mer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
1510	Calamars à l'américaine	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
1511	Crevettes sauce Thaï	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=	=
1512	Brandade de morue	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
1513	Pavé de saumon sauce mousseline	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
1514	Terrine de saumon fumé à la crème	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=	=
1515	Parmentier de poisson	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
2554	Dés de saumon fumé	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=	=
2555	Chutes de saumon fumé	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
2556	Dés de saumon fumé	-	+	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=	=
2557	Saumon fumé	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	/	-	=	=
2558	Saumon fumé de Norvège	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=
2559	Saumon fumé de Norvège	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	/	-	=	=
2560	Saumon fumé	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	/	-	=	=
2561	Saumon fumé de l'Atlantique	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	/	-	=	=
2562	Saumon fumé	-	+	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=	=
2563	Saumon fumé d'Irlande	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=	=

En gras : produits artificiellement contaminés (n° et produit)

VEGETAUX ET DIVERS																		
Echantillons		EN ISO 11290-1					Méthode ACCUPROBE Listeria monocytogenes											Concordance ISO/Accuprobe
		Fraser 1/2		Fraser		Résultat	Fraser 1/2 24H					Fraser 1/2 48H					Résultat final	Fraser 1/2 48H
		OAA	PALCAM	OAA	PALCAM		Palcam					Palcam						
									Confirmation		Résultat			Confirmation		Résultat		
N	Produit	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes		colonies suspectes	Test Accuprobe	OAA	Rapid'L.mono		colonies suspectes	Test Accuprobe	OAA	Rapid'L.mono			
416	Salade Bulgare	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
417	Salade Bretonne	-	-	+	+	+	-	/	/	/	-	+	+	+	+	+	+	=
418	Salade Franc comtoise	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
419	Salade Strasbourgeoise	-	-	-	+	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
420	Persil	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
426	Salade Marco polo	-	-	-	+/-	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
429	Salade Bulgare	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
446	Poêlée méridionale	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
447	Gâteau au chocolat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
563	Salade de riz niçois	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
569	Riz à la provençale	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	/	-	=
584	Salade Bulgare	-	-	-	+	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
661	Poivrons rouges	-	-	-	-	-	+1col	+	-/-	-/-	-	+	-	/	/	-	-	=
923	Carottes râpées	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
924	Tomates à la Grecque	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
925	Macédoine	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
926	Pain de légumes	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
927	Pommes de terre	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
928	Poireaux	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
929	Haricots verts	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
930	Epinards hachés	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
1078	Roulés végétariens	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
1081	Oignons préfrits	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=

VEGETAUX ET DIVERS																		
Echantillons		EN ISO 11290-1					Méthode ACCUPROBE Listeria monocytogenes											Concordance ISO/Accuprobe
		Fraser 1/2		Fraser		Résultat	Fraser 1/2 24H					Fraser 1/2 48H					Résultat final	Fraser 1/2 48H
N	Produit	OAA	PALCAM	OAA	PALCAM		Palcam					Palcam						
		colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes		colonies suspectes	Test Accuprobe	Confirmation		Résultat	colonies suspectes	Test Accuprobe	Confirmation		Résultat		
									OAA	Rapid'L.mono				OAA	Rapid'L.mono			
1103	Poivrons rouges	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1104	Echalotes	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
1106	Ail pulpe	-	-	-	-	-	+	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
1107	Echalotes	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	-	/	/	-	-	=
1114	Taboulé	-	+	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
1115	Salade bretonne	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1116	Salade gauloise	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1118	Salade Marco Polo	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
1119	Salade serpentine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1120	Piemontaise au jambon	-	+	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
1121	Salade Alaska	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1122	Salade Alaska	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1123	Emincé de chou blanc	-	+	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
1124	Duo de légumes	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
1246	Salade bulgare	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=
1247	Salade de choux rouge	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=
1249	Emincés de chou blanc	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=
1250	Duo de légumes	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
1251	Salade niçoise	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=
1253	Macédoine de légumes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=
1254	Salade de fruits de mer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=
1255	Carottes râpées	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=
1264	Courgettes rondelles	-	-	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
1265	Julienne de légumes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=
1266	Haricots verts	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=
1267	Légumes verts	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=

VEGETAUX ET DIVERS																		
Echantillons		EN ISO 11290-1					Méthode ACCUPROBE Listeria monocytogenes											Concordance ISO/Accuprobe
		Fraser 1/2		Fraser		Résultat	Fraser 1/2 24H					Fraser 1/2 48H					Résultat final	Fraser 1/2 48H
N	Produit	OAA	PALCAM	OAA	PALCAM		Palcam					Palcam						
		colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes		colonies suspectes	Test Accuprobe	Confirmation		Résultat	colonies suspectes	Test Accuprobe	Confirmation		Résultat		
									OAA	Rapid'L.mono				OAA	Rapid'L.mono			
1268	Salade poireaux poulet	-	-	-	-	-	-	-	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
1269	Salade alaska	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	+	=
1376	Chou blanc	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
1377	Courgettes rondelles	-	+	+	+	+	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	ND
1378	Macédoine	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
1379	Trio de choux	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
1428	Purée de pêches blanches	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1429	Coulis de mangue	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1430	Purée de mûres	-	+	-	-	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	
1431	Purée d'artichauts	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1432	Purée de brocolis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1433	Tarte aux poireaux	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1434	Purée d'artichauts	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1435	Chou rouge	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1436	Poivrons	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1437	Poêlée champêtre	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=

En gras : produits artificiellement contaminés (n° et produit)

ECHANTILLONS DE L'ENVIRONNEMENT																		
Echantillons		EN ISO 11290-1					Méthode ACCUPROBE Listeria monocytogenes											Concordance ISO/Accuprobe
		Fraser 1/2		Fraser		Résultat	Fraser 1/2 24H					Fraser 1/2 48H					Résultat final	Fraser 1/2 48H
N°	Produit	OAA	PALCAM	OAA	PALCAM		Palcam					Palcam						
		colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes		colonies suspectes	Test Accuprobe	Confirmation OAA	Confirmation Rapid'L.mono	Résultat	colonies suspectes	Test Accuprobe	Confirmation OAA	Confirmation Rapid'L.mono	Résultat		
422	Epongette bac maturation	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
423	Epongette moulage table	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	=
424	Epongette cuve décongélation	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
425	Epongette tapis Skater	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
493	Salaison-Cuve congélation	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
494	Salaison-Table de pesée moulage	-	+	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
495	Salaison-Malaxeur	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
496	Salaison-Trans palette	+	+	+	+	+	+	-	/	/	-	+	+	+	+	+	+	=
497	Salaison-Coffret à marmites	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
498	Salaison-Palonnier marmite	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
499	Salaison-Chariot produits frigo	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
500	Salaison-Tapis conditionnement	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
529	Pâtisserie-Tapis pétrin	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
530	Pâtisserie-Tapis	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
531	Pâtisserie-Tapis	+/-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
532	Pâtisserie-Tapis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	=
533	Pâtisserie-Tapis	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	+	+	+	+	+	PD
534	Pâtisserie-Doseur levure	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
535	Pâtisserie-Caisson climatiseur	-	+	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
536	Pâtisserie-Tapis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	=
537	Pâtisserie-Tapis	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
538	Pâtisserie-Tapis	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
539	Pâtisserie-Tapis ligne croissant	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	+	=
643	Salaison-Chiffonnette table	-	+	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=

ECHANTILLONS DE L'ENVIRONNEMENT																		
Echantillons		EN ISO 11290-1					Méthode ACCUPROBE Listeria monocytogenes											Concordance ISO/Accuprobe
		Fraser 1/2		Fraser		Résultat	Fraser 1/2 24H					Fraser 1/2 48H					Résultat final	Fraser 1/2 48H
N°	Produit	OAA	PALCAM	OAA	PALCAM		Palcam					Palcam						
		colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes		colonies suspectes	Test Accuprobe	Confirmation OAA	Confirmation Rapid'L.mono	Résultat	colonies suspectes	Test Accuprobe	Confirmation OAA	Confirmation Rapid'L.mono	Résultat		
644	Salaison-Pupitre salle préparation	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
645	Salaison-Commande marnite	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
646	Salaison-Tirette -porte	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
647	salaison-Poignée porte	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
648	Salaison-Montant porte	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	+	+	+	+	+	PD
649	Salaison-Porte et poignée	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
650	Salaison-Tapis conditionnement	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
651	Salaison-Table démoulage	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	+	-	/	/	-	-	=
652	Salaison-Cartonneuse	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
653	Charcuterie poisson-Cutter	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
654	Charcuterie poisson-Poussoir	-	-	-	-	-	+	-	/	/	-	-	/	/	/	/	-	=
655	Charcuterie poisson-Bennesr	-	+	-	+	-	+	-	/	/	-	+	-	/	/	/	-	=
656	Charcuterie poisson-Cloche tranchage	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
814	Environnement salaison	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
815	Environnement salaison	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
816	Environnement salaison	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
817	Environnement salaison	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
818	Environnement salaison	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
819	Environnement salaison	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
820	Environnement salaison	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
821	Environnement salaison	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
838	Environnement salaison	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
839	Environnement salaison	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
840	Environnement salaison	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
841	Environnement salaison	-	-	-	+	+	-	/	/	/	-	+	+	+	+	+	+	=
1399	Chiffonnette-atelier pâtisserie	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=

ECHANTILLONS DE L'ENVIRONNEMENT																		
Echantillons		EN ISO 11290-1					Méthode ACCUPROBE Listeria monocytogenes											Concordance ISO/Accuprobe
		Fraser 1/2		Fraser		Résultat	Fraser 1/2 24H					Fraser 1/2 48H					Résultat final	Fraser 1/2 48H
		OAA	PALCAM	OAA	PALCAM		Palcam					Palcam						
N°	Produit	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes	colonies suspectes		colonies suspectes	Test Accuprobe	Confirmation OAA	Confirmation Rapid'L.mono	Résultat	colonies suspectes	Test Accuprobe	Confirmation OAA	Confirmation Rapid'L.mono	Résultat		
1400	Chiffonnette-atelier pâtisserie	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
1401	Chiffonnette-atelier patisserie	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1402	Chiffonnette-atelier patisserie	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1472	*Eau de lavage*	-	-	+	+	+	-	/	/	/	-	+	+	+	+	+	+	=
1473	*Eau de lavage*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1477	*Eau de lavage*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1516	Chiffonnette évier	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1518	Eau de process	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1519	Eau de process	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1521	Eau de process	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1522	Eau de process	-	-	-	-	-	-	/	/	/	-	-	/	/	/	-	-	=
1523	Poussières	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1524	Eau de process	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=
1525	Eau de process	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/	/	/	+	=